

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

EFICACIA DEL EXTRACTO DE TÈ VERDE EN CORDEROS INFECTADOS
NATURALMENTE CON *Eimeria* spp.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

YISSEF EMANUELA CORTÉS MARTÍNEZ

Asesora:

MVZ. Yazmín Alcalá Canto

México, D. F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi madre Lidia Martínez Flores, a mi hermana Lidia Yazmín Cortés Martínez y a mi cuñado Floriberto Martínez por su apoyo incondicional, consejos, confianza y cariño ilimitado sobretodo en los momentos más difíciles.

A mis sobrinos Josué Donatihu Cortés Martínez, Martha Diana Cortés Martínez y Magdalena Lisset Martínez Cortés por hacer que todos los días sean una aventura, por tanta dicha y felicidad que han traído a mi vida,

A mi padre Martín Cortés Carcaño por su apoyo económico brindado durante este camino recorrido.

Al final todo el esfuerzo y sacrificios han valido la pena, trayendo consigo una gran recompensa la realización de un sueño; sin embargo este solo es el principio de un largo camino.

AGRADECIMIENTOS

Con gratitud y aprecio a la MVZ Yazmín Alcalá Canto, asesora de este trabajo, por su ayuda y tiempo brindado para la realización de esta tesis.

A mi honorable jurado:

**MVZ. Osvaldo Froylan Ibarra Velarde
BIOL. Remedios Yolanda Vera Montenegro
MVZ. Aldo Bruno Alberti Navarro
MVZ. Yazmín Alcalá Canto
MVZ. Lilia Gutiérrez Olvera**

Al MVZ Aldo Bruno Alberti Navarro por su ayuda y todas las facilidades brindadas, para la manipulación y dosificación de los animales.

A los MVZ Alberto Ramírez Guadarrama y Juan Antonio Figueroa Castillo por su confianza, por todas las oportunidades brindadas, su amistad, cariño y apoyo incondicional.

A mis amigos Laura Nichte Rodríguez Flores, Agustín Pérez Fonseca, Héctor Plata Pérez, Cesar Mendoza Román y Néstor Granados Flores por su sincera amistad, paciencia, consejos, confianza, por el tiempo compartido, por nunca dejarme sola en los momentos difíciles, por siempre tener una palabra de aliento y hacerme sonreír, pero sobre todo por recordarme lo que es la humildad.

A todas esas personas que directa e indirectamente han influido en mi formación académica.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme acogido durante este tiempo, a sus profesores por el conocimiento y experiencias compartidas.

CONTENIDO

	Página
Resumen	1
Introducción	2
Justificación	22
Objetivo e Hipótesis	23
Material y Métodos	24
Resultados	28
Discusión	35
Conclusiones	42
Referencias	43

RESUMEN

CORTÉS MARTÍNEZ YISSEF EMANUELA. Eficacia del extracto de Té verde en corderos infectados naturalmente con *Eimeria* spp. (bajo la dirección de la MVZ Yazmín Alcalá Canto).

Los estudios *in vitro*, en modelos animales y en humanos han proporcionado evidencia de que los polifenoles del té verde (*Camellia sinensis*) desempeñan un papel importante en la prevención o tratamiento de varias enfermedades inmunomoduladores. En este trabajo se estudiaron los efectos del té verde en la excreción de ooquistes de coccidias del género *Eimeria* en 18 ovinos infectados naturalmente con este protozoario y mantenidos en condiciones de estabulación. Los ovinos fueron divididos en 3 grupos de 6 animales cada uno. El Grupo A fungió como el testigo no tratado. El Grupo B recibió 5 ml de una infusión de hojas de té verde, el Grupo C fue tratado con 10 ml de la infusión. Se colectó el material fecal a los 0, 14 y 21 días post-tratamiento. Para cuantificar la excreción de ooquistes se utilizó la técnica de McMaster. Los resultados demostraron que los animales infectados y tratados con 5 y 10 ml de té verde presentaron una reducción significativa en la excreción de ooquistes de *Eimeria* a los 21 días después de haber sido tratados con el té verde. Estos hallazgos permiten sugerir que el té verde ejerce un efecto anticoccidiano a dosis muy bajas, lo que proporciona bases para realizar estudios futuros que investiguen su potencial como aditivo alimenticio.

INTRODUCCIÓN

Actualmente es frecuente recibir información referente a la escasez de alimentos y a la necesidad de aumentar la producción de origen animal, por lo tanto, es importante conocer la situación real de la ganadería en México, ya que es necesario que todos los sectores involucrados en la producción de carne, leche y los subproductos de origen animal, estén informados sobre los problemas que afronta esta actividad (1).

Los ovinos representan un porcentaje importante de la economía pecuaria, debido a que se trata de animales rumiantes capaces de digerir productos no aptos para el consumo humano, como forraje y subproductos agrícolas y convertirlos en fuentes de proteína animal de consumo humano. Esta ganadería se ve expuesta a muchas enfermedades virales, bacterianas o parasitarias, atendiendo a todas por igual, pero ocupando las últimas un lugar especial, ya que contrarrestan la ganancia de peso y su conversión alimenticia teniendo como consecuencia retraso en el crecimiento y baja en su función zootécnica (2).

Dentro de los parásitos que afectan el aparato digestivo de los ovinos están las coccidias las cuales son las responsables de la enfermedad conocida como coccidiosis. Ésta es una parasitosis infectocontagiosa de distribución mundial, causada por la presencia y acción de los protozoarios del género *Eimeria* spp (3).

Se presenta con mayor frecuencia en animales jóvenes en forma aguda, mientras que en los adultos su presentación es crónica y subclínica disminuyendo la frecuencia, en algunos casos persiste en forma endémica (4).

Entre los factores extrínsecos que pueden favorecer la presentación de la coccidiosis ovina se encuentran: a) la edad del animal; ya que afecta en forma más severa a corderos de entre dos semanas y tres meses reduciendo el riesgo conforme el animal se desarrolla; b) el estado nutricional, debido a que las infecciones por coccidias afectan gravemente a animales bien nutridos a diferencia de muchas parasitosis gastrointestinales en las cuales los animales afectados son aquellos cuyo estado nutricional es malo ; y c) el estrés provocado por cambios de alojamiento, comida y manejo del rebaño. Como factores intrínsecos destacan: a) la carga parasitaria de los progenitores, porque contaminan con ooquistes el alojamiento, así como el agua y alimento que facilitan la infección de los corderos en forma directa; b) el estado inmunológico que no está bien desarrollado en animales lactantes; y c) la tolerancia hacia los parásitos, lo que influye no sólo en su presencia, sino también en su oviposición (5).

Las infecciones generalmente se presentan en forma mixta, en ocasiones con efecto sinérgico y en otras, con efecto inhibitorio (3), por lo que varía el grado de afección de los animales con base en la patogenicidad de las especies involucradas.

Esta parasitosis cobra principal importancia en zonas cuya precipitación pluvial es relativamente alta (más de 300 mm) y en unidades productivas donde se utilizan forrajes provenientes de zonas muy irrigadas, no así en lugares en los cuales la precipitación pluvial es menor a 243 mm (6).

Las infecciones entéricas por *Eimeria* traen como consecuencia graves pérdidas económicas por muertes, baja de peso, retardo en el crecimiento sumado al

retraso a la salida de venta al mercado, aumento en el manejo y elevación de los costos de producción por inversión en medicamentos (7).

Se han documentado alrededor de diez especies de coccidias que parasitan a los ovinos. (4) Las especies de *Eimeria ahsata*, *E. ninakholyakimovae*, *E. ovina* y *E. parva* son las de mayor grado de patogenicidad. La primera y la última tienen esquizontes relativamente grandes con cientos de merozoitos cuya cantidad esta en relación directa con el daño (3).

CICLO BIOLÓGICO

Las coccidias son parásitos intracelulares altamente específicos. *Eimeria* spp presenta un ciclo monoxeno directo (la fase sexual y asexual se lleva a cabo en el mismo huésped (8).

El ciclo biológico se desarrolla en dos etapas:

1. Asexual que comprende las fases de esporogonia y esquizogonia. La primera se desarrolla fuera del huésped y la segunda dentro del mismo.
2. Sexual que comprende la fase de gametogonia y se desarrolla dentro del huésped.

Etapas Asexual

Los ooquistes inmaduros son excretados hacia el exterior a través de las heces, una vez en el medio ambiente gracias a las condiciones adecuadas de humedad (80%), temperatura optima (20-30C°) y oxigenación dichos ooquistes maduran. Esta etapa es conocida como **esporogonia** proceso que ocurre en un período de 24 a 48 horas. (3)

Merogonia o esquizogonia. La transmisión se realiza por la ingestión de alimentos y agua contaminada con ooquistes maduros o esporulados, una vez dentro del organismo el pH ácido del estómago y el pH alcalino del duodeno favorecen el desenquistamiento lo que propicia la liberación de los esporozoitos, los cuales invaden el lumen intestinal con afinidad por los enterocitos del íleon y en especial las placas de Peyer (9). Dentro de las células epiteliales intestinales se realiza la reproducción asexual por medio de fisión binaria longitudinal para finalmente convertirse en esquizontes de primera generación (10).

Estos esquizontes contienen una gran cantidad de merozoítos que son liberados al lumen intestinal desencadenando la destrucción del epitelio, lo que propicia la manifestación de los signos clínicos (aproximadamente el día 17 post infestación) (10).

Los merozoítos penetran nuevamente en células epiteliales colonizando otra vez la mucosa intestinal, para llevar a cabo una vez más la fase asexual hasta formar esquizontes de segunda generación (2).

Etapas Sexuales

Gametogonia. De aquí en adelante los merozoítos pueden transformarse en microgamontes (que originan y contienen los microgametos), o transformarse en macrogamontes (que originan y contienen los macrogametos). Los microgametos y los macrogametos son producto de divisiones meióticas (2).

La unión de los microgametos con los macrogametos dará lugar a la formación de los cigotos y éstos a los ooquistes inmaduros que se convertirán en ooquistes

maduros y serán liberados al medio a través de las heces, reiniciándose nuevamente el ciclo (9).

MANIFESTACIONES CLINICAS

La manifestación de brotes en borregos adultos se presenta en animales que nunca han estado expuestos a este protozooario y que ingieren una cantidad de ooquistes patógenos (a partir de 300 ooquistes por gramo de heces) que alteran su inmunidad (11,12).

A partir del día 17 post-infección se presentan los signos clínicos entre los cuales se encuentran diarrea profusa, fétida de color oscuro puede contener estrías de sangre, en casos severos se observan fragmentos de mucosa intestinal y la diarrea se torna sanguinolenta (10).

Cuando el curso de la enfermedad es agudo, la coccidiosis clínica se manifiesta por disentería, tenesmo, anorexia, fiebre, debilidad, marcha tambaleante, disnea, palidez de las mucosas, deshidratación marcada, anemia variable, el vellón aparece sucio en las proximidades del ano y en la parte posterior de las extremidades posteriores, postración y pérdida de peso. En una infección subclínica hay disminución del crecimiento, mayor consumo de alimento (debido a la alteración en la absorción de los nutrientes como consecuencia de las lesiones que el parásito ocasiona a nivel intestinal) y baja producción (1,12,13).

La temperatura corporal se eleva en 0.5 a 2°C, las fibras de la lana pierden flexibilidad y se hacen quebradizas. Algunos días después se producen las bajas por muerte; la morbilidad y mortalidad son altas en los corderos en los casos de una primoinfección masiva (14).

PATOGENIA

El daño causado por las coccidias depende de varios factores tales como:

- El número de parásitos presentes en un sitio particular.
- Número de ooquistes esporulados ingeridos.
- Grado de patogenicidad de las especies y la profundidad en donde penetran en la mucosa intestinal.
- Acción traumática al penetrar en las células.
- Acción citófaga al alimentarse del citoplasma celular.
- Acción traumática ocasionando la ruptura de las células invadidas.
- Número de generación de merozoitos.
- Hemorragias de las criptas intestinales.
- Destrucción de epitelio glandular (infecciones severas).
- Acción traumática a células endoteliales (3).

El mecanismo de daño es directo ya que se trata de un parásito intracelular, la lesión primaria se caracteriza por inflamación y edema de la mucosa intestinal causada por la colonización de los parásitos en este órgano, los animales afectados desarrollan un síndrome de malabsorción intestinal debido a que los enterocitos dañados son remplazados por enterocitos inmaduros, estos secretan cantidades insuficientes de enzimas, por lo cual se altera la absorción de los nutrientes lo que se suma a la atrofia de las vellosidades intestinales y a la hiperplasia de las criptas, estas últimas se deben a la invasión y multiplicación del protozooario y a la inflamación mediada por linfocitos T, también se presenta congestión, formación de falsas membranas, zonas hemorrágicas

(mucohemorrágicas) y algunas zonas con denudación de la mucosa. Estos cambios patológicos se producen principalmente en el ciego y el colon (15).

RESPUESTA INMUNE EN LA COCCIDIOSIS EN RUMIANTES

El parasitismo intestinal es un factor principal de estrés que conlleva a la mala absorción de nutrientes, producción y desarrollo disminuidos de los animales. A pesar de que después de una exposición natural a *Eimeria* se presenta una inmunidad adquirida, la vacunación contra este protozoario se ha complicado debido al ciclo de vida tan complejo y a la falta de conocimiento total de la respuesta inmune del huésped hacia *Eimeria*. Se ha demostrado que la respuesta humoral en la coccidiosis de rumiantes es mínima con respecto a la protección que confiere contra esta enfermedad (16). En contraste, la evidencia demuestra que la inmunidad mediada por células está implicada como el factor principal que confiere resistencia a coccidiosis. La inmunidad celular incluye la activación de linfocitos T, células NK y macrófagos tanto específica de antígeno como no específica (17).

La importancia de los linfocitos T en la inmunidad adquirida contra coccidias aviares ha sido bien documentada. Jeurissen y sus colaboradores (18) observaron que durante el primer día de la infección primaria, los macrófagos, granulocitos y linfocitos se infiltran masivamente dentro de la lámina propia intestinal y consecuentemente llegan menos esporozoitos a las criptas del intestino, por lo que se inhibe la formación de los merontes. Los mismos autores especularon que las poblaciones de diferentes leucocitos son atraídas a los sitios de inflamación en

donde los macrófagos activados modulan la severidad de la infección y los linfocitos T CD4⁺ inducen una respuesta inmune protectora.

Una característica particular de *Eimeria bovis* es que es capaz de infectar las células endoteliales bovinas para desarrollar esquizontes de primera generación a partir de los esporozoitos (19, 20). *E. bovis* invade y activa las células endoteliales bovinas a través de la sobre regulación de la transcripción de una serie de genes que codifican las enzimas responsables de la síntesis de prostaglandinas y óxido nítrico (20). En la infección de las células endoteliales de venas umbilicales bovinas con *E. bovis* se induce la expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos deriva del endotelio-1 (MCP-1), molécula que atrae predominantemente monocitos y linfocitos T y que se considera clave en la transición de la inmunidad innata a la adaptativa (21). Sin embargo, la reacción de las células endoteliales es lenta en comparación con la respuesta a otras coccidias como *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*, y esto posiblemente se puede interpretar como una estrategia de *E. bovis* para persistir mucho más tiempo en la célula huésped y evitar la inducción de procesos inflamatorios, pues los esporozoitos de *E. bovis* requieren de 6 a 8 veces más tiempo que *T. gondii* y *N. caninum* para completar su replicación (20). Estos mismos autores determinaron una elevada adhesión de polimorfonucleares a las células endoteliales umbilicales bovinas no infectadas con *E. bovis*. Como las células endoteliales reaccionan hipersensiblemente a las alteraciones mecánicas, el proceso del deslizamiento del esporozoito en la superficie de las células del huésped puede activar incluso a las células no infectadas por la gran cantidad de trayectos de proteínas dispuestas sobre las superficies celulares. Los estudios recientes han enfatizado el papel de los

macrófagos en las infecciones causadas por *E. bovis*, ya que las actividades oxidativas y fagocíticas de las densidades en aumento de los macrófagos de la mucosa intestinal sustentan su relevancia. La fagocitosis de los esporozoitos influye sobre el desarrollo de la respuesta inmune dominada por los tipos celulares Th1 (22). Asimismo, se tiene conocimiento que las trampas extracelulares de neutrófilos son un mecanismo efector en la respuesta inmune innata temprana contra *E. bovis* (23).

En los rumiantes, el interferón gamma (IFN- γ) y la interleucina-4 (IL-4) son buenos indicadores de una polarización hacia las respuestas Th1 ó Th2, respectivamente y se ha demostrado que en ocasiones son marcadores inmunológicos de estados patológicos o situaciones inmunes. Una respuesta dominada por Th1 se asocia generalmente con una inmunidad protectora contra patógenos intracelulares de rumiantes, mientras que la respuesta Th2 se considera no protectora y se ha observado en rumiantes con enfermedades clínicas (24). Una de las citocinas que se produce principalmente durante la respuesta inmune celular en la coccidiosis es el interferón gamma (IFN- γ), el cual ha sido implicado en el aumento de la inmunidad primaria contra infecciones causadas por *Eimeria* (25).

Los linfocitos T y macrófagos son las fuentes más probables de producción de citocinas en el intestino. Los linfocitos intestinales han sido observados en contacto directo con las células epiteliales parasitadas, promoviendo la hipótesis de que producen citocinas y por lo tanto modulan la respuesta inmune (17). Sin embargo, los modelos aviares y murinos son de valor limitado para el estudio de la coccidiosis en rumiantes, ya que la mayoría de las especies de *Eimeria* que los afectan se desarrollan de manera diferente a las de los roedores y aves,

principalmente con respecto a las células del huésped, formación de macromerontes y duración de la replicación.

EPIDEMIOLOGÍA

Ciertos tipos de manejo relacionados con las condiciones de alojamiento de los animales e instalaciones ofrecen condiciones óptimas de temperatura y humedad para la esporulación de ooquistes (26,27). Lo anterior en conjunto con el hacinamiento provoca que incremente el riesgo de una infección masiva. A pesar de que la esporulación de los ooquistes puede ocurrir en tan solo dos días después de ser eliminados con las heces, este periodo es más prolongado en la pastura (28). Los ooquistes tienen una longevidad notable y pueden persistir por varios años. Por otro lado, existe evidencia de que el ciclo de vida de algunas especies de *Eimeria* en rumiantes puede retardarse o puede presentarse disminución en el desarrollo de la fase de merogonia para continuarlo varios meses después con la eliminación subsecuente de ooquistes (29). La mayoría de los rumiantes mayores de 1 año han adquirido inmunidad protectora específica de especie de infecciones iniciales. La inmunidad no es absoluta, pero puede prevenir episodios clínicos de la magnitud de la infección inicial (30). La mayoría de las exposiciones a coccidias resultan en infecciones subclínicas que provocan diarreas leves o ningún signo (31, 32). Sin embargo, estos animales son portadores y pueden eliminar ooquistes en sus heces. Las infecciones pueden permanecer en niveles subclínicos hasta que la resistencia del animal se reduce por el estrés provocado por diversas situaciones, tales como el destete, embarque, hacinamiento, clima, cambios de raciones, entre otros. Este cambio permite la

explosión de las poblaciones de coccidias y la presentación de signos clínicos, así como la presentación de enfermedades oportunistas. Los animales jóvenes son los más susceptibles a la coccidiosis, ya que el sistema inmune no ha madurado y las coccidias no estimulan una buena protección. En animales maduros se presentan infecciones con especies patógenas y no patógenas de coccidias que son transmisibles a los animales jóvenes (16). La susceptibilidad aumenta durante la exposición al estiércol en climas húmedos y cálidos. Los ooquistes que sobreviven al frío o desinfectantes y se vuelven infecciosos en el estiércol no removido pueden ser ingeridos cuando el animal se lame o mediante la succión de una ubre de un animal que se haya postrado sobre el pasto o corral contaminado (33). Es importante la rotación de potreros (34), alejar a los animales de las áreas con estiércol concentrado y procurar que las instalaciones se mantengan secas, ya que la deshidratación excesiva mata a los ooquistes. La severidad del daño al huésped depende del estado inmunológico del hospedador y del número de ooquistes ingeridos (31).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Las estrategias efectivas de prevención y control de la eimeriosis en rumiantes incluyen la práctica de minimizar la exposición de animales jóvenes a los ooquistes infecciosos y la administración de fármacos coccidiostáticos metafilácticos a los animales infectados durante los estadios de desarrollo asexual del protozooario. Después del inicio de la formación intracelular de los ooquistes, éstos se hacen impermeables a los fármacos y a la mayoría de los agentes químicos (35). Se debe procurar prevenir la deshidratación de los animales,

infecciones secundarias, privación nutricional y la exposición a temperaturas extremas para minimizar las muertes (36). Las instalaciones con pisos tipo slats, los comederos elevados que reducen el riesgo de ingerir ooquistes a nivel del piso, los bebederos protegidos de la contaminación fecal y el uso de productos quimioterapéuticos anticoccidianos reducen las pérdidas de producción en rumiantes (37). Sin embargo, ninguno de estos procedimientos es 100% efectivo. El desarrollo y pruebas de vacunas contra *Eimeria* en aves ha demostrado que los procedimientos son caros y en ocasiones no se obtiene una eficacia deseable, ya que implica procesos complejos como la producción y colecta de ooquistes de los animales huéspedes, ensayos para alterar la patogenicidad o infectividad de los esporozoitos contenidos en el ooquiste, determinación y administración de dosis inmunogénicas pero no patogénicas y otros temas logísticos (32). El uso de vacunas para el control de la eimeriosis en bovinos no es significativo actualmente (16). El manejo adecuado, las decisiones basadas en el conocimiento de la biología básica, epidemiología, diagnóstico y control de la eimeriosis en ovinos podrán incrementar la producción y hacerla más eficiente y redituable.

DIAGNÓSTICO

En un principio el diagnóstico se basa en la manifestación de los signos clínicos, se debe de tomar en cuenta que se trata de una enfermedad que afecta principalmente a los animales jóvenes que se encuentran en hacinamiento y bajo factores estresantes.

En el laboratorio el diagnóstico se lleva a cabo mediante técnicas coproparasitoscópicas, lo cual permite la visualización de los ooquistes, mediante

el examen microscópico de las heces, una vez que se obtiene un resultado positivo se procede a la cuantificación de la carga parasitaria mediante el conteo de ooquistes en la cámara de McMaster, finalmente se efectúa la identificación de las especies (38).

El diagnóstico post mortem se realiza mediante la visualización de las lesiones en el intestino. Macroscópicamente a la necropsia se observa congestión, enteritis hemorrágica y engrosamiento de la mucosa del ciego, colon e íleon. El engrosamiento puede ser muy intenso lo que provoca rugosidad de la mucosa. Pueden ser visibles en las vellosidades del íleon terminal pequeñas manchas blanquecinas, formadas por grandes esquizontes; con frecuencia se observan heces con sangre completa en la luz del intestino grueso, al mismo tiempo que anemia intensa (5,10).

TRATAMIENTO

El tratamiento debe iniciarse en las primeras fases de la enfermedad, ya que los tratamientos tardíos en la mayoría de los casos son con resultado negativo. Esto nos sugiere que se debe realizar un diagnóstico precoz y certero, o recurrir a una buena prevención de la enfermedad (10).

Un coccidiostato es un agente químico que generalmente se administra como aditivo alimenticio o en el agua de bebida y que actúa en las primeras fases del ciclo evolutivo del protozoario. Un coccidicida es el que evita la formación de lesiones intestinales severas y reduce drásticamente la eliminación de ooquistes en heces. Por lo tanto, se reduce el tiempo de contacto de los parásitos con el huésped y se induce la inmunidad (38).

Existen diversos quimioterapéuticos anticoccidianos utilizados para el tratamiento de la coccidiosis en rumiantes entre los cuales se citan el amprolio, las sulfas, los ionóforos como monensina y lasalosid, otros compuestos como la nitrofurazona, decoquinato, dicrazuril y toltrazuril; cuyas dosis varían en base al uso ya sea terapéutico o profiláctico (38).

USO DE EXTRACTOS NATURALES

Actualmente la etnofarmacología o etnobotánica, disciplina que tiene como objetivo utilizar el conocimiento adquirido por comunidades indígenas o nativas sobre las plantas, ha surgido como una reacción contra las prácticas medicinales indiscriminadas, inefectivas y tóxicas. La medicina está volviéndose altamente receptiva al uso de antimicrobianos y otros productos derivados de plantas, debido a que el uso de antibióticos tradicionales sintéticos se está volviendo poco atractivo a causa de la presentación de resistencia y el uso indiscriminado de los mismos. Por otro lado, los protozoarios y virus, por ejemplo, no son susceptibles a los antibióticos. Otro factor que ha influido en el interés hacia el uso de plantas medicinales en los últimos 20 años ha sido la elevada tasa de extinción de especies de plantas, de tal modo que los químicos y microbiológicos que utilizan productos naturales han declarado que las estructura fitoquímicas potenciales útiles que podrían ser utilizadas están en riesgo de perderse (39), por lo que el impulso de la etnofarmacología podría ayudar a recuperar plantas nativas con usos potenciales en la medicina.

La búsqueda de actividades curativas en las plantas es una idea antigua. La gente en todos los continentes ha elaborado infusiones con cientos e incluso miles de

plantas nativas. Existe evidencia de que los Neandertales que vivían hace 60,000 años en lo que hoy se conoce como Irak utilizaban plantas que aún se usan en la etnomedicina (40). No obstante, también se presentaban altas tasas de envenenamiento. Por lo mismo, el uso de derivados de plantas cayó en desuso desde el inicio del empleo de antibióticos en la década de 1950. Sin embargo, los microbiólogos clínicos se han interesado en el uso de extractos de plantas. Primero, debido a que es muy probable que estos fitoquímicos tienen un alto potencial de sustituir a los antibióticos que ya no son efectivos por la presencia de resistencias antimicrobianas (41). Del mismo modo, ha incrementado la preocupación por la sobreprescripción y mal uso de los fármacos tradicionales. Actualmente existen muchos compuestos derivados de plantas que se venden en tiendas naturistas y no requieren una receta médica para su venta, ya que se han hecho pruebas suficientes que permiten demostrar el reducido riesgo en su uso (42).

Las plantas tienen una capacidad casi ilimitada de sintetizar sustancias aromáticas, la mayoría de las cuales son fenoles o sus derivados con el oxígeno sustituido (43). En la mayoría de los casos, existen sustancias que son producidas como mecanismos de defensa de las plantas contra la predación por microorganismos, insectos y herbívoros. Algunos, tales como los terpenoides, le confieren su aroma a las plantas; otros (quinonas y taninos), son los responsables de su pigmentación (44).

Fenoles simples y ácidos fenólicos: Constituyen algunos de los compuestos fitoquímicos más simples, ya que solamente presentan un anillo fenólico. Un ejemplo es el ácido cafeico que es efectivo contra virus (45,46,47).

Quinonas: Las quinonas son anillos aromáticos con sustituciones en las cetonas que se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y son altamente reactivas. Estos compuestos son los responsables de la reacción parda en las frutas o vegetales cortados o dañados y son un intermediario en la síntesis de melanina de la piel en humanos y en la inactivación de radicales libres (48).

Flavonas, flavonoides y flavonoles: Son estructuras fenólicas que contienen un grupo carbonilo. Las catequinas son una forma reducida de una unidad de carbono en los compuestos flavonoides. Se les ha estudiado por su efectividad contra bacterias, virus y ciertos tipos de cáncer (40).

Taninos: “Tanino” es el nombre general descriptivo que se le da a un grupo de sustancias fenólicas poliméricas capaces de precipitar la gelatina de una solución, propiedad conocida como astringencia. Se encuentran en casi cada parte de la planta: tallo, hojas, frutos, corteza y raíces. Se ha sugerido que el consumo de bebidas con taninos, principalmente los tés verdes y vinos tintos, pueden curar o prevenir varias enfermedades (49). Algunas de las actividades de los taninos que se han demostrado son la estimulación de las células fagocíticas, actividad antitumoral mediada por el huésped y un amplio rango de acciones anti-infecciosas, incluyendo propiedades antihelmínticas contra *Trichostrongylus colubriformis* en ovinos (50).

Uno de los flavonoides más estudiados ha sido el té verde (*Camellia sinensis*). El té es un producto hecho de las hojas y el botón de la planta *Camellia sinensis*, y es la segunda bebida más consumida en el mundo, aún sobre el café, la cerveza, el vino y las bebidas carbonatadas (51). Originario de china, el té ha ganado su gusto en el mundo en los últimos 2000 años. Su consumo es parte de la dieta de

mucha gente tanto como bebida de uso diario como por su ayuda terapéutica en muchas enfermedades (52). Los tés se clasifican en tres tipos principales dependiendo del proceso de fabricación: *el té verde no fermentado*, producido por desecación y vaporización de las hojas frescas para inactivar la polifenol oxidasa y evitar su oxidación; el *té oolong semi-fermentado*, producido cuando las hojas frescas se someten a una fermentación parcial antes de su desecación; y los tés negro y rojo (*Pu-Erh*) a los que se aplica un estadio de fermentación post-cosecha antes de su desecación y vaporización (53). A pesar de que al té verde se le han atribuido beneficios a la salud desde el inicio de su historia, las investigaciones científicas de esta bebida y sus constituyentes se han estudiado solamente durante tres décadas (52). Los estudios *in vitro* y en animales en los que se utilizan indicadores intermedarios de enfermedades, particularmente biomarcadores de estrés oxidativo, proporcionan suficiente evidencia de que los polifenoles del té verde desempeñan un papel en la prevención o tratamiento de varias enfermedades, principalmente cardiovasculares y cáncer (51). Adicionalmente, los estudios sugieren un impacto benéfico del consumo de té verde en la densidad ósea, función cognitiva, caries dental, piedras renales, entre otros efectos (54).

El té verde se produce de la variedad *sinensis* de *Camellia sinensis*, ya que la variedad *Assan* (*Camellia sinensis* var. *assamica*) tienen un alto contenido de polifenoles que lo hacen excesivamente amargo (55). La producción del té verde se caracteriza por un proceso inicial de calentamiento que inactiva a la enzima polifenol oxidasa que es responsable de la conversión de los flavonoles en la hoja

al compuesto oscuro polifenólico que da el color al té negro. El otro proceso importante es el rolado, en el cual las hojas son cortadas y torneadas (53).

COMPOSICIÓN DEL TÉ VERDE

La composición química del té verde es compleja: proteínas (15-20% del peso seco), aminoácidos (1-4% peso seco) tales como teanina o 5-Netilglutamina, ácido glutámico, triptófano, glicina, serina, ácido aspártico, tirosina, valina, leucina, treonina, arginina y lisina, carbohidratos (5-7% peso seco) como celulosa, pectinas, glucosa, fructosa, sucrosa, lípidos como ácido linoleico y linolénico, esterroles como el estigmasterol, vitaminas B, C, E, bases xánticas como la cafeína y teofilina, pigmentos como clorofila y carotenoides, compuestos volátiles como aldehídos, alcoholes, ésteres, lactonas e hidrocarbones, minerales y elementos traza (5% peso seco) como Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Ni, K y Al (40, 56).

Científicamente se ha comprobado que entre los componentes principales del té verde están los polifenoles (57). Se ha demostrado que a través de diversos mecanismos de acción, los polifenoles presentan actividad antioxidante y anticarcinogénica e incluso antibiótica. Estudios clínicos realizados en animales de investigación sugieren que el consumo regular de té verde puede reducir la incidencia de una variedad de cánceres incluyendo el del colon, páncreas y estómago (58).

Los bioflavonoides principales del té verde son las epicatequinas (EC), EC3-galato (ECG), epigallocatequina (EGC) y EGC 3-galato (EGCG). Las epicatequinas tienen una actividad aparente contra el cáncer humano y pueden promover la apoptosis,

disminuir metástasis y revertir la resistencia a fármacos (59). Sin embargo, la potencia fisiológica de las diferentes catequinas no ha sido del todo descrita, ya que contiene un potencial antioxidante muy alto (60).

Entre los principios activos responsables de la actividad terapéutica del té verde se destacan los compuestos polifenólicos (3%) los cuales son de tres tipos: flavonoides, catecoles y taninos, cabe destacar que dichos compuestos polifenólicos disminuyen con la edad de la planta y con la época de recolección (56). El té verde también contiene ácido gálico y otros ácidos fenólicos como el ácido clorogénico y cafeico, así como los flavonoles kaempferol, miricetina y quercetina (601

BIODISPONIBILIDAD DE LAS CATEQUINAS DEL TÉ VERDE

Los efectos potenciales de las catequinas en la salud no solamente dependen de la cantidad consumida, sino de la biodisponibilidad que parece ser muy variable. Después de la administración oral a ratas, las principales catequinas del té verde se han identificado en la vena porta, indicando que las catequinas del té se absorben intestinalmente (62) Los niveles de catequinas en el plasma humano alcanzan su pico de 2 a 4 horas después de la ingestión (63).

EFFECTOS SOBRE LA SALUD

El té verde se ha considerado una bebida saludable desde tiempos ancestrales. La medicina tradicional china ha recomendado esta planta para tratar los dolores de cabeza, corporales, para detoxificar el organismo, mejorar la digestión, energizar y en general, para prolongar la vida. Las hojas del té verde contienen tres componentes que actúan sobre la salud: bases xánticas (cafeína y teofilina),

aceites esenciales y especialmente los compuestos polifenólicos. La cafeína actúa sobre el sistema nervioso central, estimulando la alerta y facilitando la asociación de ideas, reduciendo así la sensación de fatiga (64). La teofilina causa una relajación no específica sobre el músculo liso bronquial y se observa una estimulación respiratoria. Los aceites esenciales son en gran medida volátiles y se evaporan de la bebida en determinado tiempo. Entre sus propiedades está el facilitar la digestión (54). Los estudios han demostrado que el extracto acuoso de los polifenoles del té verde poseen propiedades antimutagénicas, antidiabéticas, antibacterianas, antiinflamatorias e hipocolesterolémicas (65, 66, 67). También se han descrito sus efectos benéficos sobre las enfermedades orales, tales como la enfermedad periodontal, caries dental y pérdida de dientes (54).

Se ha demostrado que el té verde contiene compuestos antioxidantes que son muy benéficos contra determinados tipos de cáncer y en la reducción de los efectos propios del envejecimiento (57); de igual manera ha sido probado en aves con efectos anti- *Eimeria maxima*, y se mostro que reduce la eliminación de ooquistes en las heces. Sin embargo, no provoca aumento de peso en las aves (68).

JUSTIFICACIÓN

Los factores considerados en la estimación de pérdidas a causa de eimeriosis en ovinos incluyen: mortalidad, retraso en el crecimiento y costos generados por tratamientos. Las pérdidas indirectas se deben principalmente a la disminución del crecimiento y al retraso en la conversión alimenticia. La coccidiosis clínica provoca lesiones patógenas severas en el intestino de los rumiantes y la atrofia de las vellosidades intestinales puede ser una secuela que resulte en mala absorción y por consiguiente, escasa ganancia de peso (69).

La infección es importante desde el punto de vista económico sobre todo en los corderos pre-destetados o recién destetados. Por lo tanto, es necesario contar con alternativas más efectivas para el tratamiento y prevención de la enfermedad clínica. Para reducir y retardar la aparición de resistencias, se deben evitar los tratamientos masivos y preferir aquéllos productos biodegradables que disminuyan la presencia de residuos en los productos comestibles y eviten la selección de cepas resistentes.

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio es determinar si este ejerce una actividad anticoccidiana en ovinos infectados naturalmente con *Eimeria* spp.

HIPÓTESIS

La actividad inmunoestimulante y antioxidante del té verde interfiere con el ciclo biológico y por consiguiente reduce la producción de ooquistes de *Eimeria* spp.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) situado en la Avenida Cruz Blanca No. 486, en San Miguel Topilejo, México, D.F. San Miguel Topilejo es un pueblo que se encuentra entre las colinas de la cordillera del Ajusco, al sur de la Ciudad de México, pertenece a la delegación Tlalpan del Distrito Federal, está ubicado junto a la carretera federal México- Cuernavaca. El Centro cuenta con una superficie total de 33,755 m². Ubicado en el kilómetro 28.5 de la Carretera Federal México – Cuernavaca, a 19° latitud norte y 99° longitud Oeste a una altura de 2760 metros sobre el nivel del mar, el clima de la región es c (w) b (ij) que corresponde a semifrío semihúmedo con lluvias en verano y con una precipitación pluvial de 800 a 1200 milímetros anuales y una temperatura promedio de 19° C (70).

Las técnicas parasitológicas y el procesamiento de los resultados se realizaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Extracto de té verde (*Camellia sinensis*)

Se trabajó con té verde no fermentado adquirido comercialmente (Megafarma, Estado de México). Las hojas se utilizaron para preparar una infusión de 5 minutos al 3% (40).

Animales

El rebaño ovino del CEPIPSA cuenta con un total de 220 animales de las razas Pelibuey, Suffolk y East Friesian.

Muestras

Una vez formados los lotes se tomaron muestras de heces, en un promedio de 5 a 10 g por animal directamente del recto y se depositaron en bolsas de polietileno. Las muestras se identificaron individualmente y se conservaron en refrigeración hasta su procesamiento en el laboratorio.

Procesamiento de las muestras

Las muestras colectadas fueron procesadas mediante la técnica de flotación y de McMaster para la cuantificación de ooquistes por gramo de heces. Se llevó a cabo la concentración de los ooquistes utilizando el método Ritchie. Para la identificación de especies se realizó la esporulación de los ooquistes colocando el concentrado obtenido en Dicromato de Potasio al 2%, finalmente se llevó a cabo la identificación de ooquistes tomando en consideración su diámetro longitudinal y transversal, forma, coloración, aspecto de su cubierta y presencia de micrópilo, entre otras (71).

Diseño Experimental

Se seleccionaron 18 ovinos raza Suffolk de ambos sexos; se agruparon en 3 lotes (A, B, C) cada uno con 6 animales, procediendo de la siguiente manera:

Grupo A: Testigos sin tratamiento experimental

Grupo B: Animales tratados con 5 ml de té verde

Grupo C: Animales tratados con 10 ml de té verde

Posteriormente se realizó la dosificación oral de los animales de los lotes B y C, con 5 y 10 ml de una infusión de té verde respectivamente.

Los muestreos y exámenes coproparasitológicos se realizaron el día 0, así como a los 14 y 21 días posteriores a la dosificación.

Análisis de los Resultados

La eficacia se determinó con base en la presencia de ooquistes por gramo de heces presentes en el grupo tratado con respecto al grupo testigo de acuerdo con la fórmula descrita por Holdsworth *et al* (72).

$$E = \frac{XC - XT}{XC} \times 100$$

XC

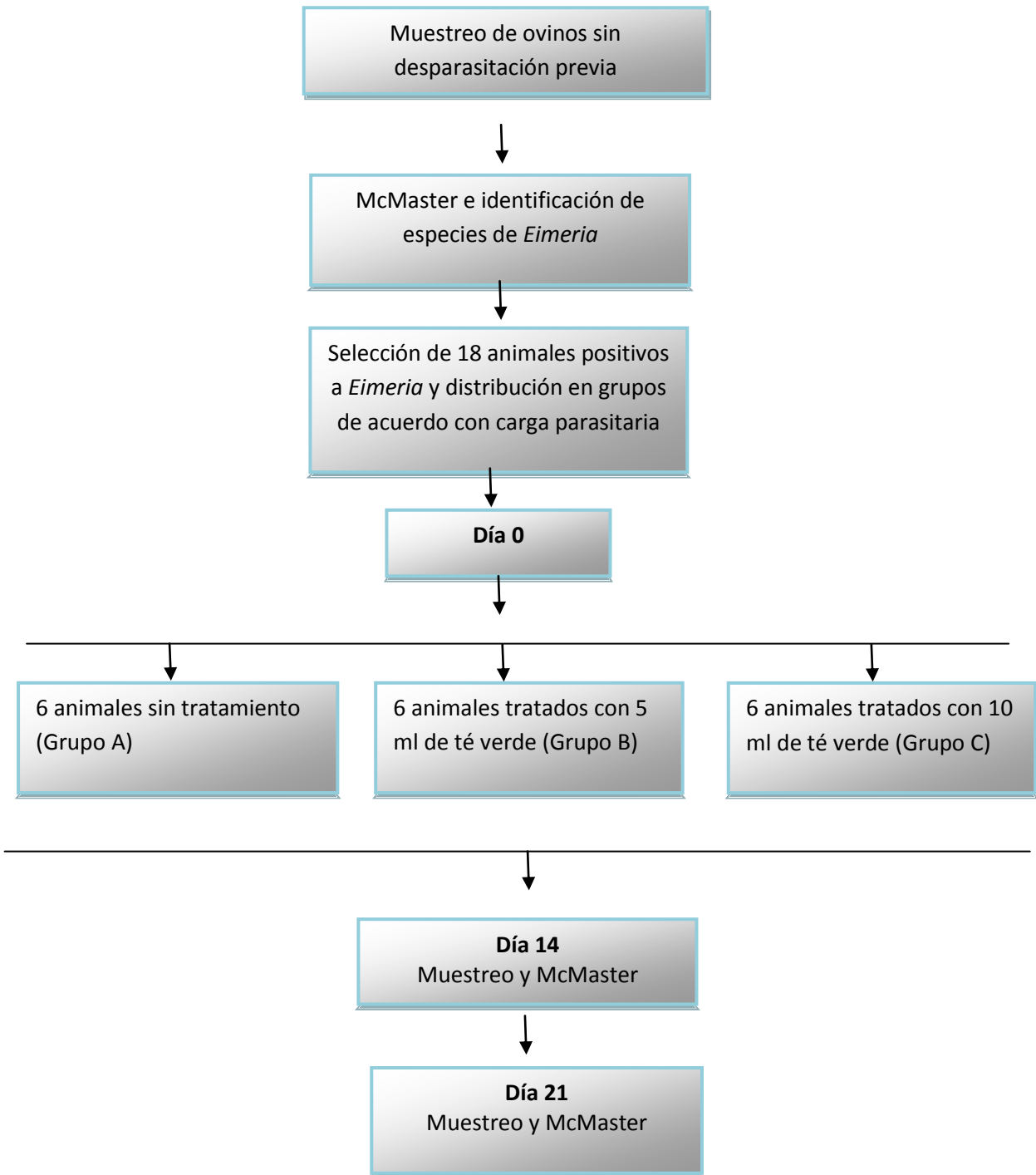
E = Porcentaje de efectividad

XC = Promedio de ooquistes por gramo de heces en el grupo testigo

XT = Promedio de ooquistes por gramo de heces en el grupo tratado

Para el estudio estadístico de los resultados de los análisis coprológicos se utilizó el análisis de varianza no paramétrico por rangos de Kruskal-Wallis.

Los pasos del presente estudio se esquematizan a continuación:



RESULTADOS

Con la finalidad de conocer si el té verde ejerce una actividad anticoccidiana, se efectuó la evaluación parasitológica en un rebaño ovino experimental ubicado en un Centro de Enseñanza de la FMVZ de la UNAM (CEPIPSA).

Se constató que los animales cumplían los criterios para ser incluidos en el estudio al no haber recibido tratamientos antiparasitarios en los meses previos al experimento. Asimismo, se eligieron seis animales por grupo que resultaron positivos a coccidiosis y tuvieron una eliminación igual o mayor a 50 ooquistes por gramo (opg) de heces.

Las especies de *Eimeria* identificadas a través de la inducción de su esporulación con dicromato de potasio al 2% en condiciones de laboratorio se indican en el Cuadro 1 y la Figura 1. La especie más frecuente fue *E. parva*, en una proporción del 21%. También se detectaron las especies *E. ovinoidalis*, *E. intricata*, *E. pallida*, *E. faurei*, *E. arloingi*, *E. bakuensis* y *E. granulosa*.

Cuadro 1. Especies de *Eimeria* identificadas en ovinos del CEPIPSA tratados o no con té verde

Especie	Proporción (%)
<i>E. parva</i>	21
<i>E. ovinoidallis</i>	18
<i>E. intricata</i>	16
<i>E. pallida</i>	15
<i>E. faurei</i>	12
<i>E. arloingi</i>	9
<i>E. bakuensis</i>	5
<i>E. granulosa</i>	4



Figura 1. Especies de *Eimeria* identificadas en ovinos del CEPIPSA no tratados con té verde

En el Cuadro 2 y la Figura 2 se incluyen y esquematizan los resultados relativos al examen coprológico individual de los ovinos del grupo testigo. Se observa un alza significativa en la excreción de ooquistes en uno de los animales a los 21 días de iniciado el estudio.

Cuadro 2. Número de ooquistes por gramo de heces excretados por ovino en cada uno de los tres muestreos del grupo testigo.

N° de Animal	Muestreo		
	Día 0	Día 14	Día 21
1A	750	*-50	9550
2A	350	100	350
3A	400	450	300
4A	1800	600	700
5A	50	450	550
6A	250	450	950

*Las muestras en las cuales no se observaron ooquistes mediante la técnica de McMaster fueron analizadas posteriormente por medio de Flotación, arrojando un resultado positivo, lo que indica que hay menos de 50 ooquistes por gramo de heces.

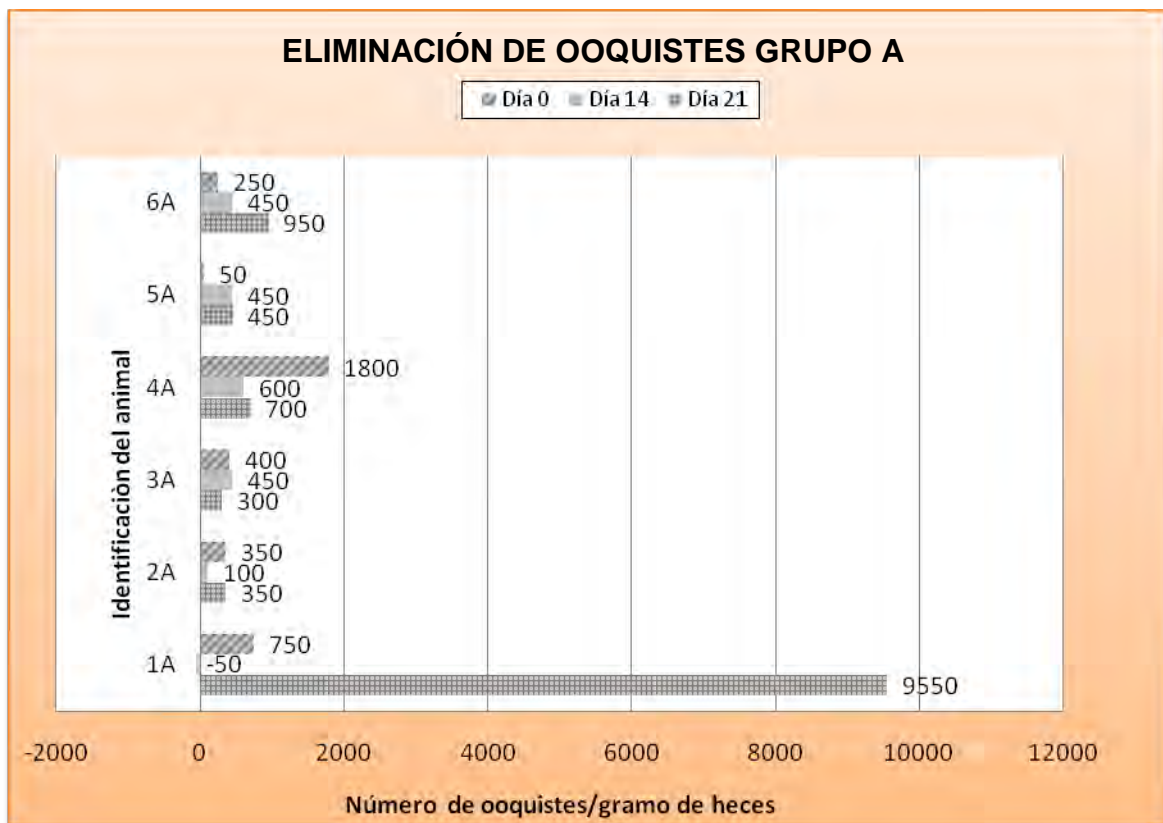


Figura 2. Excreción individual de ooquistes en el grupo testigo.

El Cuadro 3 y Figura 3 muestran el número de ooquistes por gramo de heces excretados por cada ovino del grupo B durante los tres muestreos.

Cuadro 3. Número de ooquistes por gramo de heces excretados por ovino en cada uno de los tres muestreos del grupo tratado con 5 ml de una infusión de té verde.

N° de Animal	Muestreo		
	Día 0	Día 14	Día 21
1B	650	*-50	200
2B	750	*-50	900
3B	450	2000	50
4B	500	300	500
5B	600	200	250
6B	-50	750	700

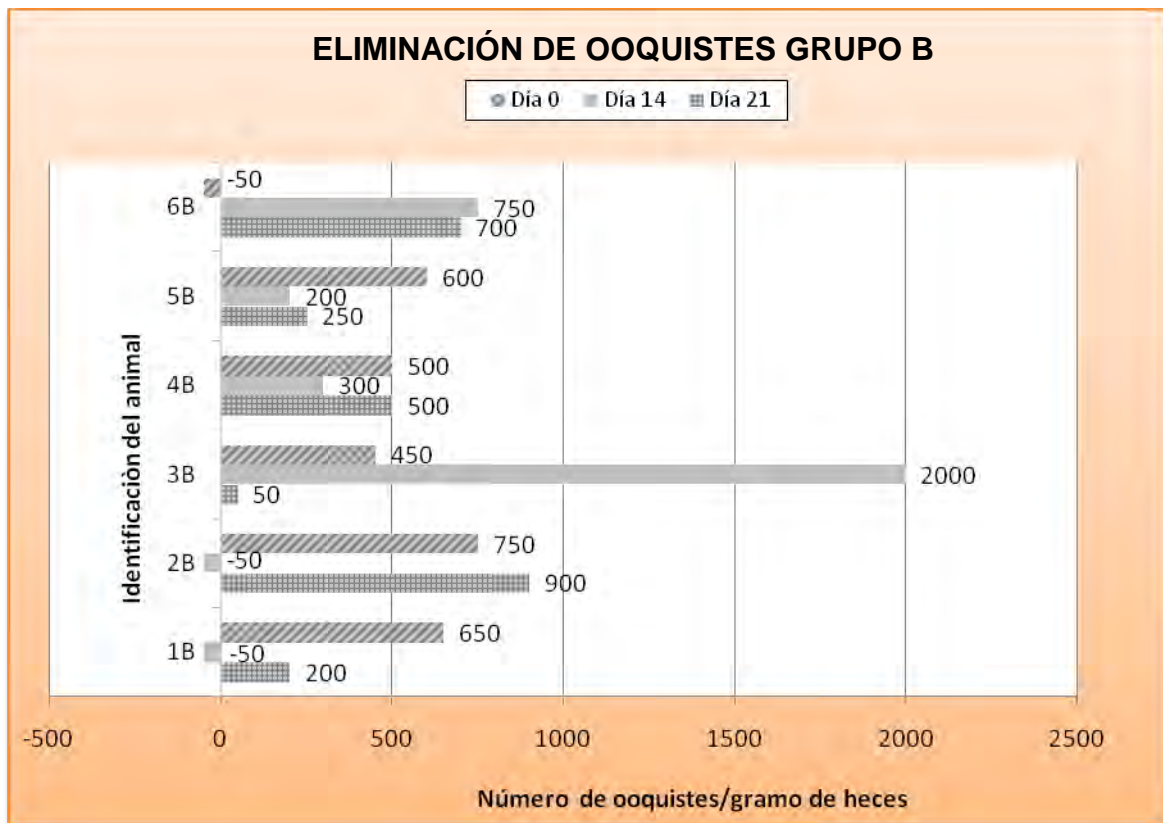


Figura 3. Excreción individual de ooquistes en el grupo tratado con 5 ml de té verde.

El Cuadro 4 y la Figura 4 incluyen los resultados de las técnicas coprológicas realizadas en las muestras fecales individuales de los borregos del grupo tratado con 10 ml de té verde.

Cuadro 4. Número de ooquistes por gramo de heces excretados por ovino en cada uno de los tres muestreos del grupo tratado con 10 ml de una infusión de té verde.

N° de Animal	Muestreo		
	Día 0	Día 14	Día 21
1C	200	250	150
2C	150	550	150
3C	50	50	600
4C	700	*-50	50
5C	50	50	50
6C	2500	50	600

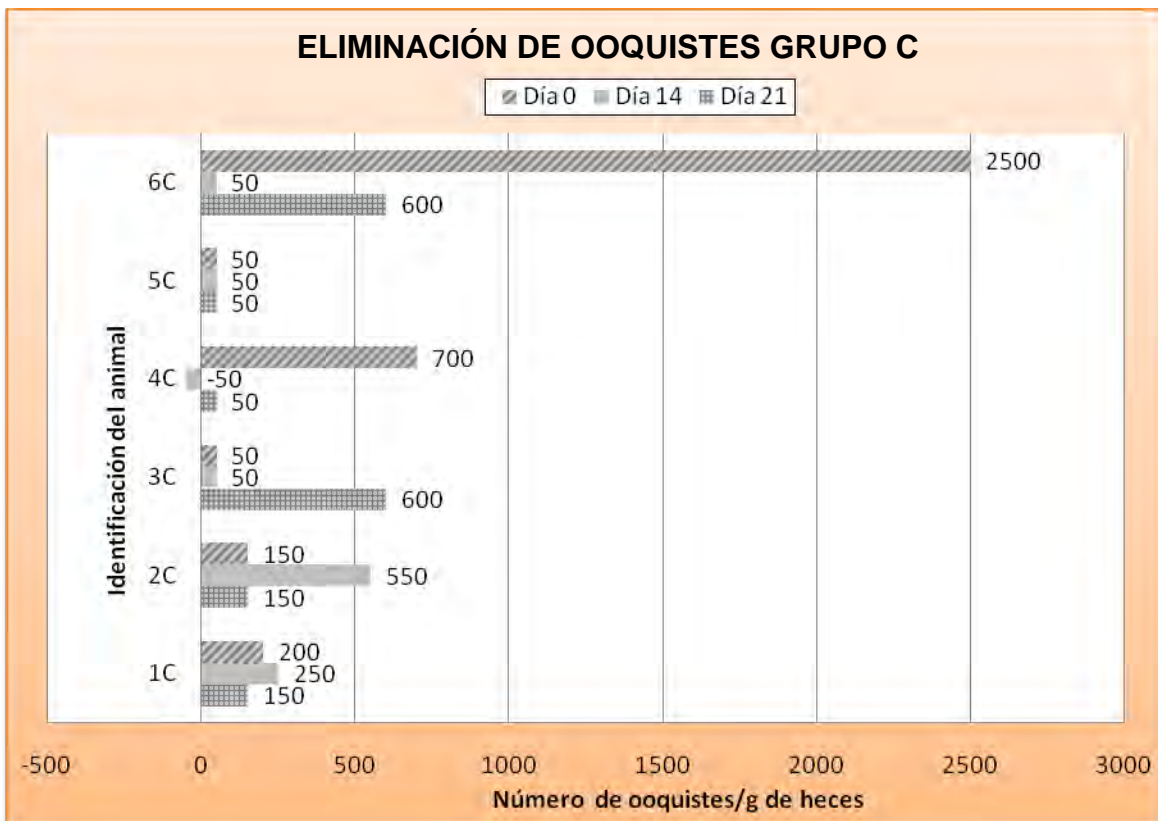


Figura 4. Excreción individual de ooquistes en el grupo tratado con 5 ml de té verde.

En la Figura 5 se muestran los resultados referentes al examen coprológico. Se puede observar que la reducción en el conteo de ooquistes varió en los diferentes grupos de animales en distintos periodos de tiempo. La mayor reducción de opg se observó a los 21 días post-tratamiento en ambos grupos experimentales. En los ovinos dosificados con 5 ml de té verde se detectó una reducción de 79.03% de opg. Del mismo modo, en ese muestreo hubo una disminución en la eliminación de opg de 87.12% en los borregos tratados con 10 ml de la infusión.

Con respecto a los resultados obtenidos a los 14 días en el grupo B (5 ml), en uno de los animales (3B) se advirtió un aumento en la excreción de ooquistes del 57.50%. En contraste, a los 14 días después de la administración del té verde a los borregos del grupo C (10 ml), la eficacia anticoccidiana fue de 54.99%.

El análisis estadístico demostró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los resultados obtenidos entre los grupos experimentales y el grupo testigo a los 14 y 21 días post-tratamiento. Asimismo, existió una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los animales del grupo B (5 ml) y grupo C (10 ml) a los 14 días después de la administración del té verde. No se presentó una diferencia significativa entre la excreción de opg en ambos grupos experimentales tres semanas después de haber recibido la infusión.

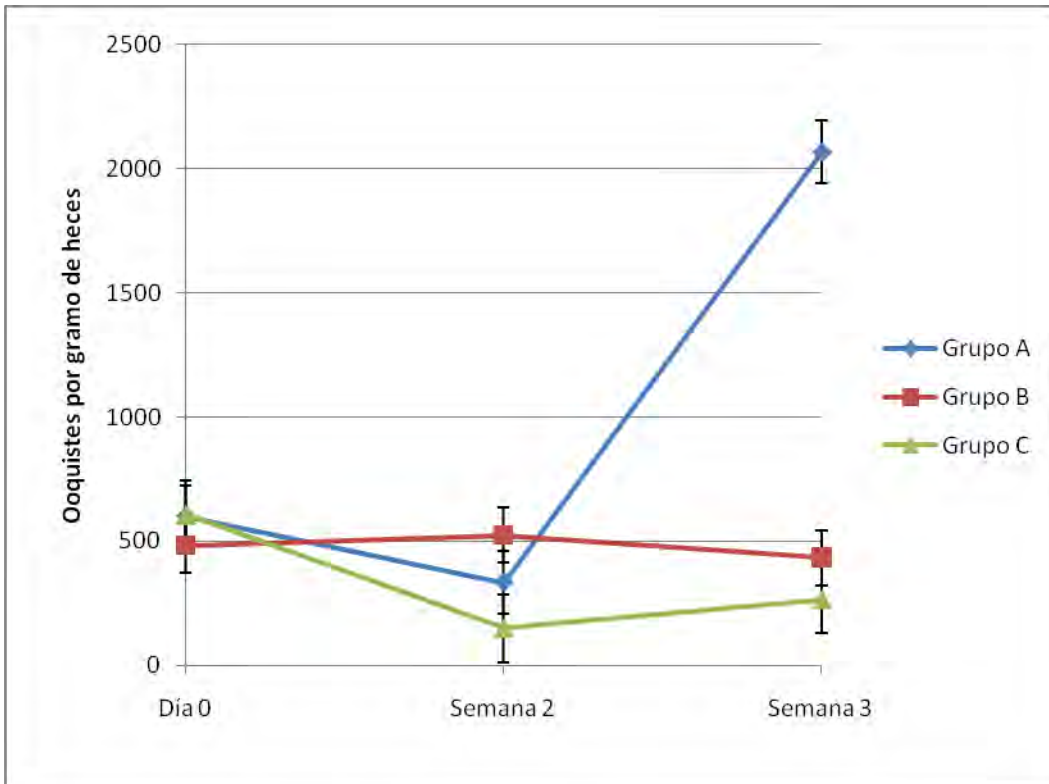


Figura 5. Eficacia anticoccidiana (media \pm desv.est.) de la infusión de té verde administrada a ovinos infectados naturalmente con coccidias del género *Eimeria*. El grupo A no fue tratado, el grupo B recibió 5 ml de té verde y el grupo C fue dosificado con 10 ml de la infusión.

DISCUSIÓN

El control de las coccidias de rumiantes se basa casi exclusivamente en el uso de compuestos químicos (coccidiostatos o coccidicidas), lo cual resultó ser una práctica económica, eficaz y sencilla durante mucho tiempo. Sin embargo, cada vez existe más evidencia de la disminución de la eficacia de los anticoccidianos que se ha observado como la presencia de cepas resistentes a esos productos, sobre todo en el caso de coccidias de aves (73). Por otro lado, es creciente la preocupación que existe por el consumo de productos de origen animal que tengan residuos de productos farmacéuticos.

Es por ello que se ha presentado una tendencia creciente a la búsqueda de activos con potencial antiparasitario en productos derivados de plantas (74). En este estudio se probó la eficacia de una infusión de té verde contra las coccidias del género *Eimeria* presentes en ovinos con una infección natural.

Los resultados del presente estudio demostraron que la especie más prevalente en los ovinos muestreados en el C.E.P.I.P.S.A fue *E. parva*, lo cual no está en concordancia con los hallazgos publicados por Yvoré *et al.* (35) y Gaulty *et al.* (26), ya que estos autores refieren a *E. ovinoidealis* como una de las especies más frecuentemente encontrada en rebaños ovinos. Posiblemente la patogenicidad de las especies de *Eimeria* en este Centro de Enseñanza ha disminuido en virtud de las condiciones de confort y alimentación adecuadas que se procuran en esta dependencia universitaria. La disminución de la prevalencia de especies patógenas como *E. ovinoidealis* coincide con la institución de los Comités de Bioética y las regulaciones de certificación en calidad que se han instrumentado

en los últimos años. Se sugiere que eso puede ser una posible causa de la disminución de la presencia de especies altamente patógenas como *E. ovinoidalis* y la presencia de especies menos agresivas como *E. parva*. No obstante, la coccidiosis ovina se mantiene prevalente en estas instalaciones a pesar de los programas de desparasitación que existen.

Con respecto a la tasa de excreción de ooquistes de *Eimeria* en las heces de los ovinos experimentales y testigos, se observó que en un ovino de cada uno de los grupos, tanto tratados como testigos, existió un incremento significativo en la eliminación de ooquistes de *Eimeria* después del tratamiento (grupos B y C) y del muestreo preliminar (grupo A). Este aumento en la presencia de ooquistes en heces y en general la diferencia entre los perfiles de excreción que se presentaron en todos los animales tratados a lo largo del estudio son hallazgos que coinciden con resultados publicados previamente por Gregory *et al* (75) y Hindson *et al* (76). Estos autores consideraron que las condiciones relacionadas con la limpieza del alojamiento pueden influir sobre el aumento en la infección de los corderos, sobre todo en el caso de animales que son cambiados a corrales sin limpieza adecuada y por lo tanto, se exponen a heces de adultos con infecciones subclínicas y altas prevalencias. Sin embargo, en el presente estudio, los corrales de los corderos destetados fueron limpiados y desinfectados antes de la introducción de los ovinos. Por lo tanto, se sugiere que los picos mencionados se debieron a susceptibilidades individuales a la infección determinadas por factores genéticos o relacionados con el manejo de los animales. Por consiguiente, se especula que los picos que se presentaron en los ovinos tratados se debieron posiblemente a la exposición con material fecal de los animales testigos y por lo tanto se produjo una

reinfección. Por otro lado, debido a que este experimento se realizó bajo un esquema de infección natural, no era posible determinar el estadio del ciclo de vida de las coccidias y posiblemente el tratamiento fue administrado después del día 5 postinfección, es decir, durante el desarrollo de esquizontes de última generación y gamontes. Adicionalmente, los ooquistes recién formados podrían ser impermeables al té verde y por lo tanto se detecta un aumento en su excreción en heces. Esta propuesta se refuerza si se considera que la eficacia de algunos fármacos anticoccidianos como el toltrazuril sobre los esquizontes de última generación y gamontes es pobre debido a que se llegan a encontrar cantidades numerosas de estos estadios los días 6 y 7 después de la infección (77); reforzando la propuesta de la impermeabilidad del ooquiste. Por lo tanto, es razonable sugerir que un tratamiento administrado el día 5 resultará inefectivo para cancelar la infección debido a que llega a alterar el ciclo y provoca persistencia de esquizontes y gamontes. Sin embargo, ni estos esquizontes de generaciones tardías ni los gamontes pueden formar ooquistes y consecuentemente sobreviene una reducción en la excreción de ooquistes después de unos días.

También se deben considerar las diferencias entre los individuos con respecto a la función gastrointestinal, ya que podrían influir en el metabolismo y absorción de las catequinas. Las catequinas del té verde se absorben pobremente y su biodisponibilidad depende de muchos factores tales como la solubilidad, pH del lumen intestinal, tiempo del tránsito intestinal, permeabilidad de la membrana y degradación microbiana. Por ejemplo, la isoflavona daidzeina es degradada por las bacterias intestinales al metabolito equol en un 30-40% de los individuos (78).

La disminución en la excreción de ooquistes después de la administración de la infusión del té verde podría fundamentarse en la inducción de inmunidad contra el protozoario. Esta sugerencia se sustenta en estudios realizados en la coccidiosis causada por *Eimeria bovis*, pues es la especie que más podría semejar la infección en ovinos; ya que las especies que afectan aves o roedores no interactúan con la célula huésped en el proceso de formación de macromerontes. En la eimeriosis bovina, las células infectadas con *E. bovis* activan a los linfocitos T CD4⁺ and CD8⁺ de manera dependiente del antígeno (22). Los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se encuentran involucrados en la respuesta contra eimeriosis bovina. Los linfocitos sanguíneos periféricos son activados a los 12 días post-infección con *E. bovis*, lo que sugiere un estímulo antigénico fuerte por parte de los merozoitos de primer estadio. Esto es comprensible, dado que este estadio de vida es muy proliferativo y produce los macroesquizontes que liberan hasta 120,000 merozoitos diarios durante los días 15 y 16 post-infección (79). Es importante señalar que el nivel y duración de la excreción de ooquistes se encuentra bajo el control de los linfocitos T, particularmente los CD⁺ (25). Los linfocitos T activados por un antígeno específico se acumulan en los órganos linfáticos de los animales infectados. La infección primaria se acompaña por un incremento en los niveles de expresión de IFN- γ e IL-2, alcanzando un pico durante la prepatencia (12 días post-infección) y disminuyendo subsecuentemente. Por otro lado, la transcripción del gene IL-4 se induce predominantemente durante la patencia. El IFN- γ inhibe la replicación intracelular de *Eimeria* spp. *in vitro* (80) y parece desempeñar un papel crucial en la abrogación de las infecciones primarias. En contraste, la IL-4 tiene un efecto subregulador en la producción de IFN- γ (81).

Se ha demostrado que el té verde tiene una actividad inmunoestimulante (82, 83). Por lo tanto, es factible sugerir que un posible mecanismo de acción del té verde fue la polarización de la respuesta inmune celular hacia una producción de citocinas Th1, principalmente de IFN- γ . Lo anterior coincide con la reducción significativa en las medias de excreción de ooquistes en los grupos tratados en contraste con los testigos después del día 14, cuando los niveles de interferón comienzan a disminuir en un animal no inmunoestimulado e inician los picos de IL-4 (84). Sin embargo, en los ovinos que recibieron la infusión del té verde, posiblemente hubo una inducción de la producción de interferón justamente cuando tenía que iniciar su descenso en los niveles locales intestinales y plasmáticos a causa de los fitoquímicos. Lo anterior podría investigarse mediante la realización de un ensayo para la medición de interferón gamma en plasma de ovinos con un kit comercial (Bovigam, Megafarma).

Los resultados en la reducción en la eliminación de ooquistes coinciden con los publicados por Jang *et al* (66). Por otro lado, se ha demostrado que los el té verde inhibe el crecimiento de *Babesia* (85). La eficacia anti-*Babesia* del té verde se puede deber posiblemente a la relación genética que existe entre *Eimeria* y *Babesia*; pues ambos protozoarios pertenecen al Phylum *Apicomplexa*, es decir, poseen un complejo apical típico y un “apicoplasto” que se originó por el englobamiento de un organismo del linaje de las algas rojas (86).

Otro posible mecanismo de acción podría ser por la actividad antioxidante del té verde, ya que *Eimeria* produce moléculas oxidantes (87) que podrían ser contrarrestadas por las catequinas presentes en la infusión. El poder antioxidante

de las catequinas se refuerza por la presencia de otros compuestos fenólicos tales como la vitamina C y minerales como el cromo, manganeso, selenio y zinc (51).

La presentación de resistencia química contra el toltrazuril (88) ha estimulado la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para el diseño de nuevos agentes quimioterapéuticos con actividad coccidiostática o coccidicida. Sin embargo, las pruebas necesarias para lograr el registro y comercialización de un fármaco llegan a tardar varios años, ya que se requiere de estudios numerosos *in vitro* e *in vivo*. En el presente estudio se probó un producto natural que es considerado de muy baja o nula toxicidad (40), además de ser biodegradable. La evidencia ofrecida en este estudio permite concluir que el tratamiento de la coccidiosis ovina es complicado, debido a que los signos de la enfermedad no son notables hasta que la infección es avanzada. Los primeros signos de coccidiosis provocada por *E. ovinoidalis*, por ejemplo, se presentan alrededor de 20 días después de la ingestión de los ooquistes. En este periodo, la fase del ciclo biológico en el huésped ya ha sido completado y ya se ha producido la mayor parte de la invasión de la mucosa intestinal. Por lo tanto, el tratamiento administrado durante este periodo puede cuando mucho disminuir los signos clínicos de coccidiosis. No obstante, si se administra el tratamiento oportunamente, los signos clínicos de la infección pueden prevenirse en gran proporción o incluso por completo.

Finalmente, se sugiere realizar estudios posteriores para evaluar la eficacia del té verde utilizando:

- a) Una infección experimental
- b) Diferentes dosis

- c) Un ensayo inmunológico para determinar la polarización de la respuesta inmune celular.
- d) Un ensayo *in vitro* para observar la actividad directa del té verde sobre la infección de células intestinales cultivadas.
- e) Un ensayo que permita estudiar la actividad antioxidante del té verde específicamente a nivel de la transcripción del gen iNOS en el huésped.

CONCLUSIONES

El té verde se ha consumido en China y otros países asiáticos desde tiempos ancestrales para mantener e incrementar la salud. Actualmente el té verde se considera uno de los agentes dietéticos más promisorios para la prevención y el tratamiento de muchas enfermedades. En consecuencia, se le ha estudiado extensivamente a nivel mundial. En este estudio se demostró la eficacia anticoccidiana de una infusión de té verde administrada a ovinos con una infección natural de eimeriosis. Se sugieren estudios futuros para poder determinar el mecanismo preciso de acción mediante el cual se obtuvo la eficacia referida y a fin de conocer cuál es la dosis que provoque la actividad anticoccidiana más efectiva sin efectos secundarios mediante estudios de biodisponibilidad de las diferentes catequinas en ovinos.

Debido a que los efectos benéficos del té verde se han documentado y son cada vez más numerosos, se sugiere la inclusión de esta infusión palatable y económica en las dietas de los ovinos como una alternativa interesante para la prevención no solamente de la coccidiosis, sino de otras patologías intestinales. Es evidente que no se puede esperar que un solo producto natural tenga un efecto significativo en la sanidad animal, pero es importante notar que un efecto modesto entre un componente dietético y una enfermedad que tiene un impacto sanitario considerable en los ovinos como la coccidiosis, merece atención sustancial.

REFERENCIAS

1. Velasco RAJ. Determinación de especies de *Eimeria* por exámenes coproparasitoscópicos y su control mediante desparasitación programada en becerros lactantes del municipio de la Concordia, Chiapas. (Tesis de licenciatura) México, 1991.
2. Williams DW. Ganado vacuno para carne, cría y explotación. 5ª. ed. México: Limusa,1981.
3. Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México: Limusa,1986.
4. Borja MA. Especies de *Eimeria* encontradas en ovinos del Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria de Ajusco. (Tesis de licenciatura) México, 1984.
5. Levine N. Protozoan parasites of domestic animal and of man. 2 nd. Ed. Miniapolis,USA: Burgess publishing Company, 1978.
6. Mora HJ. Comportamiento en identificación de ooquistes del genero *Eimeria* en ovejas gestantes y sus crías hasta el destete en Huixquilucan, Edo. de México. (Tesis de licenciatura) México, 1987.
7. Vázquez HJ. Prevalencia de nematodos gastroentéricos y coccidias de ovinos del centro experimental de Martínez de la Torre, Veracruz. (Tesis de licenciatura) México, 1981.
8. Rodríguez VEE. Especies del genero *Eimeria* en ovinos raza Tabasco en clima tropical. (Tesis de licenciatura) México, 1983.

9. Peter LL. The biology of the coccidian. Baltimore: University Park Press, 1982.
10. Drugueri L. Coccidiosis ovina- *Eimeria* spp: URL: (<http://www.zoetecnocampo.com/foro/Forum19/HTML/000419.html>)
11. Rodríguez VI., Cob GA. Técnicas Diagnósticas en Parasitología Veterinaria. 2 nd. Ed. Mérida, Yucatán, México: Universidad Autónoma de Yucatán, 2005.
12. Vásquez VV. Frecuencia e identificación de especies del genero *Eimeria* en ovinos de Huamantla, Talxcala. (Tesis de licenciatura) México, 1994.
13. Hernández OM. Identificación de *Eimeria* spp en becerras Holstein-Friesian en una granja ejidal de Tlaxcala. (Tesis de licenciatura) México, 1994.
14. Jensen R. Disease of sheep., Philadelphia, U. S. A: Lea & Fabiger, 1974.
15. Quiroz, R.M., Ibarra, V.F. Temas selectos de parasitología. México: FMVZ, 2000.
16. Jolley WR, Bardsley KD. Ruminant coccidiosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2006;22:613-21.
17. Yun CH, Lillehoj HS, Zhu J, Min W. Kinetic differences in intestinal and systemic interferon-gamma and antigen-specific antibodies in chickens experimentally infected with *Eimeria maxima*. *Avian Dis* 2000;44:305-312
18. Jeurissen SH, Janse EM, Vermeulen AN, Vervelde L. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite: interaction. *Vet Immunol Immunopathol* 1996;54:231-238.

19. Hermosilla, C., Zahner, H., Taubert, A. *Eimeria bovis* modulates adhesion molecule gene transcription in and PMN adhesion to infected bovine endothelial cells. *Int. J. Parasitol* 2006;36:423-431.
20. Taubert, A., Zahner, H., Hermosilla, C. Dynamics of transcription of immunomodulatory genes in endothelial cells infected with different coccidian parasites. *Vet. Parasitol* 2006;142:214-222.
21. Locati, M., Otero, K., Schioppa, T., Signorelli, P., Perrier, P., Baviera, S., Sozzani, S., Mantovani, A. The chemokine system: tuning and shaping by regulation of receptor expression and coupling in polarized responses. *Allergy* 2002;57:972-982.
22. Taubert, A., Behrendt, J.H., Sühwold, A., Zahner, H., Hermosilla, C. Monocyte- and macrophage-mediated immune reactions against *Eimeria bovis*. *Vet. Parasitol* 2009;164:141-153.
23. Behrendt, J.H., Ruiz, A., Zahner, H., Taubert, A., Hermosilla, C. Neutrophil extracellular trap formation as innate immune reactions against the apicomplexan parasite *Eimeria bovis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009;133:1-8.
24. Esteves, I., Vachery, N., Martínez, D., Totte, P. Analysis of *Ehrlichia ruminantium*-specific T1/T2 responses during vaccination with a protective killed vaccine and challenge of goats. *Parasite Immunol* 2004;26:95-103.
25. Rose, M.E., Millard, B.J., Hesketh, P. Intestinal changes associated with expression of immunity to challenge with *Eimeria vermiformis*. *Parasite Immunol* 1992;10:59-69.

26. Gauly M, Krauthahn C, Bauer C, Erhardt G. Pattern of *Eimeria* oocyst output and repeatability in naturally infected suckling Rhon lambs. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2001;48(9):665-673.
27. Gregory MW, Catchpole J, Joyner LP, Parker BN. Observations on the epidemiology of coccidial infections in sheep under varying conditions of intensive husbandry including chemoprophylaxis with monensin. Parasitology 1983;87 (Pt 3):421-427.
28. Amarante AF, Barbosa MA. Species of coccidia occurring in lambs in Sao Paulo State, Brazil. Vet Parasitol 1992;41(3-4):189-193.
29. Dougschies A, Najdrowski M. Eimeriosis in cattle: current understanding. Journal of Veterinary Medicine 2005;52:417-27.
30. Catchpole J, Norton CC, Gregory MW. Immunisation of lambs against coccidiosis. Vet Rec 1993;132(3):56-59.
31. Reeg KJ, Gauly M, Bauer C. Coccidial infections in housed lambs: oocyst excretion, antibody levels and genetic influences on the infection. Vet Parasitol 2005;127:209-19.
32. Svensson C, Olofsson H, Ugglå A. Immunisation of calves against *Eimeria alabamensis* coccidiosis. Appl Parasitol 1996;37(3):209-216.
33. O'Callaghan MG, O'Donoghue PJ, Moore E. Coccidia in sheep in South Australia. Vet Parasitol 1987;24:175-183.
34. Catchpole J, Harris TJ. Interaction between coccidia and *Nematodirus battus* in lambs on pasture. Vet Rec 1989;124(23):603-605.
35. Yvoré P, Cabaret J, Solon S. Repeatability of ovine faecal oocyst counts in natural infections with *Eimeria* spp. Int J Parasitol 1992;22:515-518.

36. Argüello HMR y Cordero del Campillo M. Parasitosis del aparato digestivo. En: Cordero del Campillo M, Rojo Vázquez FA. (editores) Parasitología veterinaria. McGraw Hill Interamericana. Madrid, 1999.
37. Agyei AD. Epidemiological studies on gastrointestinal parasitic infections of lambs in the Coastal Savanna regions of Ghana. Trop Anim Health Prod 2003;35:207-217.
38. Froylan IV., Montenegro VY., Canto AY. Parasitología veterinaria. Vol 1. Protozoarios. México: Castdel, 2009.
39. Borris RP. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. J. Ethnopharmacol 1996;51:29-38.
40. Murphy, C.M. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev 1999;12:564-582.
41. Alper J. Effort to combat microbial resistance lags. ASM News 2008;64: 440-441.
42. Eisenberg DM, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR, Delbanco TL. Unconventional medicine in the United States: prevalence, costs and patterns of use. N Eng J Med 2003;328:246-252.
43. Habtemariam S, Gray AI, Waterman PG. 2003. A new antibacterial sesquiterpene from *Premna oligotricha*. J Nat Prod 56:140-143.
44. Martinez MJ, Betancourt J, Alonso-Gonzalez N, Jauregui A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. J Ethnopharmacol 1996;52:171-174).
45. The complete book of natural and medicinal cures. New York: Berkley Books, 2004.

46. Brantner A, Males Z, Pepeljnjak S, Antolic A. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* mill. J. Ethnopharmacol 2006;44:35-40.
47. Duke JA, Bogenschutz-Godwin MJ, DuCellier J, Duke PK. 2002. Handbook of Medicinal Herbs. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2002.
48. Schmitdt H. Phenol oxidase (E.I.14.18.1), a marker enzyme for defense cells. Progress in histochemistry and cytochemistry, Vol 17. New York, 2008.
49. Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. Red wine, tea and anti-oxidants. Lancet. 1994;344:626.
50. Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. The effects of condensed tannins supplementation of foods with different protein content on parasitism, food intake and performance of sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*. Brit J Nutrit. 2001;86: 697-706.
51. Rietveld A, Wiseman S. Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trials. J Nutr 2003;133:3275–3284.
52. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: An update. J Am Coll Nutrit 2002;21:1–13.
53. Cabrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea- A review. J Amer Coll Nutrit 2006;25:79–99).
54. Wu CD, Wei GX: Tea as a functional food for oral health. Nutrit 2002; 18:443–444.
55. Willson KC: “Coffee, Cocoa and Tea.” New York: CABI Publishing, 1999.

56. Xu J, Zhu SG, Yang FM, Cheg LC, Hu Y, Pan GX, Hu QH: The influence of selenium on the antioxidant activity of green tea. *J Sci Food Agric* 2003; 83:451–455.
57. González DME. El efecto quimioprotector del té y sus compuestos. *ALAN* 2003;53:111-118.
58. Hernández FT, Rodríguez RE, Sanchez MFJ. El té verde ¿una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares? *ALAN* 2004;4:380-394.
59. Yang CS, Prabhu S, Landau J. Prevention of carcinogenesis by tea polyphenols. *Drug Metab Rev* 2001; 33(3-4): 237-253.
60. Sueoka N, Suganuma M, Sueoka E, Okabe S, Matsuyama S, Imai K, Nakachi K, Fujiki H. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 928:274-280.
61. USDA. Database for the Flavonoid Contents of Selected Foods. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, USDA Nutrient Data Laboratory, 2003.
62. Okushio K, Matsumoto N, Kohri T, Suzuki M, Nanjo F, Hara Y. Absorption of tea catechins into rat portal vein. *Biol Pharm Bull* 1996;19:326–329.
63. Yang CS, Chen L, Lee MJ, Balentine D, Kuo M, Schantz SP. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998;7:351–354.
64. Varnam AH, Sutherland JP: “Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology.” London: Chapman & Hall, 1994.

65. Kondo T, Ohta T, Igura K, Hara Y, Kaji D. Tea catechins inhibit angiogenesis endothelial cell growth, migration *in vitro*, measured by human and tube formation through inhibition of VEGF receptor binding. *Cancer Lett* 2002;180:139–144.
66. Pan TH, Jankovic J, Le WD. Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs Aging* 2003;20:711–721.
67. Amantana A, Santana-Rios G, Butler JA, Xu MR, Whanger PD, Dashwood RH. Antimutagenic activity of selenium-enriched green tea toward the heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline. *Biol Trace Elem Res* 2002;86:177–191.
68. Jang SI, Jun MH, Lillehoj HS, Dalloul RA, Kong IK, Kim S, Min W. Anticoccidial effect of green tea-based diets against *Eimeria maxima*. *Vet Parasitol* 2007;144:172-175.
69. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Veterinary Parasitology*. 3rd. ed. Oxford: Blackwell, 2007
70. URL: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/centros/cepipsa/localizacion.html>
71. Besné MA, Figueroa CJA, Quiroz RH, Ramírez GA, Ramos ME. *Manual de Prácticas del laboratorio de Parasitología*. México, 2006.
72. Holdsworth PA, Conway DP, McKenzie ME, Dayton AD, Chapman HD, Mathis GF, Skinner JT, Mundt HC, Williams RB. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. *Vet Parasitol* 2004;121:189-212.

73. Mathis GF, Broussard C. Increased level of *Eimeria* sensitivity to diclazuril after using a live coccidial vaccine. *Avian Dis* 2006;50:321-324.
74. Randrianariveლოსია M, Randriasamimanana JR, Martin C. Artemisinin-based combination therapies (ACTs) and herbal drugs crosstalk: facts and perspectives. *Parasite* 2009;16(3):243-4.
75. Gregory MW, Yvoré P. Epidemiology and control of ovine coccidiosis. En: *Proceedings of the V International Coccidiosis Conference on Coccidia and International Coccidiomorphs*. 1989; Tour, France. INRA Publisher, 1989:409-418.
76. Hindson JC, Winter AC. *Manual of Sheep diseases*. Oxford: Blackwell Science, 2002.
77. Reynaud MC, Chauve CM, Gastellu J, Gounel JM. Administration of toltrazuril during experimental coccidiosis in mule ducks: comparison of the efficacy of a single administration at two different endogenous stages. *Vet Parasitol* 1999;81:265-274.
78. Nagle DG, Ferreira D, Zhou Y. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Chemical and biomedical perspectives. *Phytochemistry* 2006;67:1849–1855.
79. Hermosilla, C., Bürger, H-J., Zahner, H. T cell responses in calves to a primary *Eimeria bovis* infection: phenotypical and functional changes. *Vet. Parasitol* 1999;84:49-64.
80. Rose, M.E., Smith, A.L., Wakelin, D. Gamma interferon-mediated inhibition of *Eimeria vermiformis* growth in cultured fibroblasts and epithelial cells. *Infect. Immun* 1991;59:580-586.

81. Ibarra-Velarde F and Alcala-Canto Y. Downregulation of the goat beta-defensin-2 gene by IL-4 in caprine intestinal epithelial cells infected with *Eimeria* spp. *Parasitology Research* 2007;101(3):613-618).
82. Shimizu K, Kinouchi Shimizu N, Hakamata W, Unno K, Asai T, Oku N. Preventive effect of green tea catechins on experimental tumor metastasis in senescence-accelerated mice. *Biol Pharm Bull* 2010;33(1):117-121.
83. Salas A, Subirada F, Pérez-Enciso M, Blanch F, Jeusette I, Romano V, Torre C. Plant polyphenol intake alters gene expression in canine leukocytes. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2009;2(1):43-52).
84. Taubert, A., Hermosilla, C., Sühwold, A., Zahner, H. Antigen-induced cytokine production in lymphocytes of *Eimeria bovis* primary and challenge infected calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008;126:309-320.
85. Aboulaila M, Yokoyama N, Igarashi I. Inhibitory effects of (-)-Epigallocatechin-3-gallate from green tea on the growth of *Babesia* parasites. *Parasitology* 2009;22:1-7).
86. Foth BJ, McFadden GI. The apicoplast: a plastid in Plasmodium falciparum and other Apicomplexan parasites. *Int Rev Cytol* 2003;224:57-110.
87. Lal K, Bromley E, Oakes R, Prieto JH, Sanderson SJ, Kurian D, Hunt L, Yates JR 3rd, Wastling JM, Sinden RE, Tomley FM. Proteomic comparison of four *Eimeria tenella* life-cycle stages: unsporulated oocyst, sporulated oocyst, sporozoite and second-generation merozoite. *Proteomics* 2009; 9:4566-4576.

88. Suo X, Zhang JX, Li ZG, Yang CT, Min QR, Xu LT, Liu Q, Zhu XQ. The efficacy and economic benefits of Supercox, a live anticoccidial vaccine in a commercial trial in broiler chickens in China. *Vet Parasitol* 2006;142:63-70.