



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Métodos de identificación para las especies de *Eimeria sp* en
pequeños rumiantes. (Revisión bibliográfica)

Que presenta:

Piña Martínez Ricardo

Que para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

Asesor: Dr. Víctor Manuel Díaz Sánchez

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2023



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.

ÍNDICE

Agradecimientos.....	2
Introducción	3
1.1 Panorama general del inventario ovino y caprino a nivel nacional y los principales productos comercializados.....	3
1.2 Sistemas de producción en pequeños rumiantes.....	4
1.3. Algunas enfermedades de los pequeños rumiantes.....	6
1.5 Técnicas de diagnóstico para coccidiosis.....	10
1.5.1 Técnica de McMaster.....	10
1.5.2 Métodos de identificación de especies de <i>Eimeria</i>	11
II. Justificación.....	13
III. Objetivo general.....	14
IV. Objetivos particulares.....	14
V. Metodología.....	14
CAPÍTULO I Importancia de la coccidiosis en los sistemas de producción.....	15
CAPÍTULO II Características morfológicas de <i>Eimeria sp.</i>	17
2.1. Generalidades de los protozoarios.....	17
2.2. Phylum Apicomplexa.....	19
2.3. <i>Eimeria spp.</i>	21
2.3.1. Especies de <i>Eimeria spp.</i>	22
2.3.2 Ciclo biológico.....	22
CAPÍTULO III Clasificación de los métodos diagnóstico de <i>Eimeria spp.</i>	24
3.1. Diagnóstico morfológico.....	24
3.1.1. Técnica de flotación de Willis.....	24
3.1.2. Técnica de McMaster.....	26
3.2. Diagnóstico molecular.....	32
XV. Conclusión	35
XVI. Referencias.....	36

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Por ser pilares importantes en mi desarrollo humano, que ha sido determinante en mi desempeño académico y lo será en el profesional. Por motivarme a crecer y confiar en lo que soy capaz de hacer. A mi madre por las largas noches de estudio que compartimos. A mi padre por la motivación de terminar mi carrera universitaria.

Gracias por confiar en mis decisiones, por apoyarme y demostrarme siempre que nunca estaré solo. Que su amor es incondicional.

A mi hermano:

Por ser una inspiración demostrando que con esfuerzo, confianza y amor, es posible salir adelante. Por darme las opiniones más honestas y ayudarme como un guía en la toma de decisiones y compartir conmigo el amor por las ciencias de la salud y la pasión por brindar un servicio de calidad a la sociedad.

A mi novia:

Por acompañarme en esta etapa tan compleja pero satisfactoria, siendo parte de un crecimiento intelectual y emocional. Por compartir el amor por esta carrera y ser testigo de mi crecimiento personal, compartiendo una vida de logros y metas cumplidas.

INTRODUCCIÓN

Los ovinos y caprinos son especies que se han adaptado a lo largo de décadas a las necesidades de la población mexicana posterior a su llegada al territorio nacional, representando una de las actividades económicas y culturales más importantes para las familias mexicanas.

1.1. Panorama general del inventario ovino y caprino a nivel nacional y los principales productos comercializados.

En Latinoamérica, en 2017 México fue el segundo mayor productor de ovinos con 20.1% de inventario animal, solo superado por Brasil; México posee el 1.1% del 3.3% total de caprinos en el continente americano (FAO, 2009; Williams y Anderson, 2020). De acuerdo con cifras del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), el inventario ovino y caprino mexicano asciende a más de 8.7 millones de cabezas para 2020 y su distribución se reparte principalmente en los siguientes estados (Tabla 1):

Tabla 1. Principales estados poseedores de ganado ovino y caprino en México			
Estado	Número de ovinos	Estado	Número de caprinos
Estado de México	1,355,133	Puebla	1,186,305
Hidalgo	1,128,198	Oaxaca	1,185,895
Veracruz	714,021	San Luis Potosí	748,226
Puebla	549,169	Zacatecas	715,037
Zacatecas	505,272	Coahuila	679,018

Inventario a nivel nacional de ovinos y caprinos en México (SIAP 2021)

Existe una enorme variabilidad de productos que son obtenidos y comercializados a partir de ovinos y caprinos. En el caso de los caprinos, los principales productos obtenidos en el territorio nacional son: Cabrito (cría lechal de 30 días con un peso promedio de 10 kg en pie) en el norte y parte del centro de la república, chivo cebado (chivo de 40 a 45 kg) en el Pacífico y la región Mixteca, y producción lechera, que además produce cabrito como subproducto y se localiza principalmente en las regiones de La Laguna, Centro y Bajío

(Andrade-Montemayor, 2017). A partir de los recursos de los caprinos se elaboran algunos platillos y subproductos que son de suma importancia en mercados locales y como platillos tradicionales mexicanos. Estos productos son la birria, el cabrito y el mole de cadera obtenidos de la carne; cajeta, dulces, natillas, obleas, quesos frescos, quesos tipo gourmet y fórmulas lácteas a partir de la leche, calzado fino, entre otros utensilios y accesorios obtenidos del curtido de la piel (SIAP, 2016).

A diferencia de los caprinos, los productos obtenidos a partir del ovino no son tan variables. La producción de barbacoa es la locomotora de la ovinocultura en México, ya que el 90% de la producción ovina se destina a esta actividad, lo que determina la ubicación tan específica de los principales estados productores (Islas Moreno *et al.*, 2020). El 10% restante se prepara como cordero al pastor, cordero al ataúd, mixiotes, birria de ovino, cordero lechal y cordero como sustituto de cabrito, así como en cortes finos de cordero (Partida de la Peña *et al.*, 2013). Una pequeña parte de la ovinocultura se dedica a la producción de leche para fabricar quesos, aunque el nicho de consumo es muy limitado (Rocha Estrada, 2016). Finalmente, la lana, es un subproducto con muy bajo valor comparado al negocio de la carne, la cual se destina a un comercio meramente artesanal y localizado (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

1.2. Sistemas de producción en pequeños rumiantes.

La producción de pequeños rumiantes en México se comporta de distintas maneras, que son adaptables a los distintos sectores poblacionales del territorio nacional, desde zonas marginadas dedicadas a la economía de autoconsumo, hasta sistemas empresariales altamente tecnificados. Se rigen por una alta intencionalidad social, que resulta de la convergencia de intereses y objetivos de los productores y sus comunidades, en donde se originan y despliegan características del entorno social y de los problemas y necesidades que dicha comunidad enfrenta en un momento histórico dado. La intencionalidad social, también se manifiesta en la utilización de la tecnología, como un instrumento para implementar la voluntad de cambio de estructuras, procesos sociales, económicos y productivos (Grajales *et al.*, 2019).

Mundialmente se conocen cuatro tipos de sistemas productivos en pequeños rumiantes que son adaptables a distintos sectores poblacionales. Su clasificación depende de la dinamización que ejercen los productores, creando la necesidad de agrupar las granjas de acuerdo con sus principales diferencias y relaciones (Grajales *et al.*, 2019; Hernández, 1999; Devendra, 1980).

Sistemas extensivos

Bajo este sistema las ovejas y cabras pastorean sobre amplias extensiones de tierra, principalmente en tierras marginales que son inapropiadas para otro tipo de actividad agrícola. Incluye patrones nómadas, trashumantes y sedentarios de producción y se caracteriza por el hecho de que los animales son constantemente transportados. En este sistema, los animales pastorean a voluntad y no se presenta ningún tipo de suplementación con alimentos balanceados o sales mineralizadas. Este sistema presenta la ventaja de abaratar los costos de producción en alimentación e instalaciones, pero generalmente sus rendimientos productivos son menores, debido a la carencia de un manejo sanitario adecuado o implementaciones tecnológicas de mejoramiento genético (Grajales *et al.*, 2019; Vázquez M *et al.*, 2018, Vázquez *et al.*, 2009).

Sistemas semintensivos

Este sistema representa una combinación entre los sistemas extensivos e intensivos, los animales pastorean y ramonean en el día, posteriormente en la tarde - noche son estabulados y se les proporciona un suplemento alimenticio. Requiere la inversión en instalaciones y alimentos concentrados. Generalmente presentan mejores rendimientos productivos que el sistema extensivo (Grajales *et al.*, 2019).

Sistemas estabulados

En este sistema se requiere de instalaciones para una producción estabulada y de la provisión de concentrados alimenticios de gran valor nutricional. Es un sistema que presenta la desventaja de requerir mayores costos (instalaciones, mano de obra, medicina preventiva, cuidado sanitario y tecnologías reproductivas), pero se facilita el manejo de los animales y además se obtienen mejores índices productivos en cuanto a la obtención de productos y por lo tanto, mejor rentabilidad (Grajales *et al.*, 2019).

Sistemas de ovinos o caprinos integrados a cultivos agrícolas

Las ventajas que ofrece este sistema son el incremento en la fertilidad del suelo para el crecimiento de plantas de interés comercial como la caña de azúcar o palma de aceite vía aporte de heces y orina, control de crecimiento de malezas, reducción de fertilizantes, buenas tasas de crecimiento y de producción de carne y leche, reducción de costos de alimentación y mejores retornos económicos, debido a la dinámica bipartita al obtener recursos agrícolas y animales (Grajales *et al.*, 2019; Vázquez M *et al.*, 2018; Vázquez *et al.*, 2009).

En México, se hacen presentes tres modelos de producción caprina, de acuerdo al producto al que se destina dicha unidad productiva. Cabrito lechal, chivo cebado y producción de leche. Cada uno de ellos se clasifica de acuerdo a las condiciones ecosistémicas que coadyuvan, tales como la precipitación pluvial, la presencia de sistemas de producción agrícola de riego de temporada y la presencia de vegetación para la alimentación del ganado. De manera general, se puede clasificar a los sistemas de producción destinados a la caprinocultura en tres (Andrade-Montemayor, 2017):

- Los de producción de leche y cabrito como subproducto, que se presentan en regiones con un amplio rango de precipitación (200 a 600 mm), pero requiere de la presencia de cultivos de riego y/o temporada y de vegetación natural.
- Para el caso de la producción de carne de animales adultos, se presenta en regiones con rangos de precipitación menor (350 a 450 mm) pero ubicado en regiones en donde no existen cultivos de riego, pero sí de temporada y de vegetación natural.
- Finalmente, los sistemas dedicados íntegramente a la producción de cabritos, se establecen en regiones con una menor precipitación (180-300 mm), regiones en donde los residuos agrícolas son pobres y dependen principalmente de la vegetación natural.

Generalmente, los sistemas de producción de leche de cabra son intensivos (con estabulación permanente) o semintensivos en donde el pastoreo posterior a la cosecha de residuos agrícolas, aunado al uso de agostaderos naturales y a la suplementación con forrajes de corte y granos producidos en la región predominan (Andrade-Montemayor, 2017).

A pesar de lo anterior, la producción caprina sigue asociada principalmente a estratos de población rural con bajos ingresos, siendo en un 80% sistemas de producción de subsistencia. Cerca de 1.5 millones de mexicanos viven de la cabra, la cual se encuentra en 450,000 unidades de producción. Sin embargo, se reconoce a la cabra como una de las pocas fuentes de ingresos en las regiones semiáridas del país y cada vez es mayor el sector empresarial dedicado a la producción de leche y su transformación, en especial en la región de la Laguna (Coahuila y Durango) y el Bajío (Guanajuato, Querétaro, Michoacán y Jalisco) (Andrade-Montemayor, 2017).

1.3. Algunas enfermedades de los pequeños rumiantes.

Las enfermedades que se presentan en los sistemas productivos de caprinocultores y ovinocultores son reportadas como uno de los mayores problemas dentro de las unidades de

producción. Dentro de las producciones, es posible clasificarlas de acuerdo al ciclo productivo de los animales; las de los neonatos, de las crías o animales destetados y las reproductivas. Estos padecimientos incluyen causas infecciosas y no infecciosas como las enfermedades carenciales y metabólicas (Benavides, 2009). Algunas de las presentes en los sistemas de producción en pequeños rumiantes se enlistan a continuación:

Linfadenitis caseosa

Es una enfermedad infectocontagiosa bacteriana de curso crónico, que afecta preferentemente a ovinos y caprinos; se caracteriza por la producción de abscesos en el tejido subcutáneo y en los nódulos linfáticos, cuyo agente etiológico es el *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Esta enfermedad representa una elevada pérdida económica, pues puede causar enflaquecimiento y deterioro general de los animales enfermos, así como la disminución en la producción de lana, leche y carne (Szwako *et al.*, 2014). Este padecimiento es común en sistemas productivos caracterizados por la estabulación, que permiten el contacto directo entre animales sanos y abscesos desbridados naturalmente de animales infectados y unidades que permiten el ingreso de animales nuevos sin una previa exploración general del animal y cuarentena.

Nematodosis

Los nemátodos gastrointestinales son gusanos cilíndricos que habitan en el tracto digestivo y son considerados como parásitos de gran importancia en sistemas extensivos, tanto de climas tropicales como templados. Los principales nematodos involucrados en este síndrome son: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *T. axei*, *Teladorsagia (Ostertagia) circumcincta*, *Cooperia spp.*, *Oesophagostomum*, *Trichuris ovis*, *Strongyloides papillosus* y *Bunostomum spp.* Estos géneros parasitarios se presentan comúnmente de manera simultánea, agravando de forma dependiente el estado de los animales, de acuerdo con el estado nutricional y la edad. Son causantes de graves pérdidas económicas en los rebaños, reflejadas en una disminución del potencial productivo de los animales (Mondragón Ancelmo *et al.*, 2019; López Ruvalcava *et al.*, 2013; Mavrot *et al.*, 2010; Reyes- Guerrero *et al.*, 2012).

Sarna

La sarna común es una de las enfermedades parasitarias más serias de los pequeños rumiantes. Es una afectación cutánea contagiosa provocada por un ácaro que excava túneles bajo la piel, produciendo enrojecimiento, tumefacción y un intenso prurito. Los ácaros más comunes en ovinos; *Sarcoptes scabiei* var *ovis*, *Demodex sp.* *Psorergates ovis*, *Psoroptes ovis*

var ovis y *Chorioptes bovis var ovis*, mientras que en caprinos, los géneros más comunes son *Psorotes ovis var caprae* (más común), *Chorioptes bovis var caprae* y *Sarcoptes scabiei var caprae*. Los distintos cuadros de sarna están relacionados con las especies hospedadoras y así, en ovinos la sarna psoróptica es mucho más importante que en caprinos mientras que la coriográfica es rara en cabras, y la sarcóptica tampoco es tan frecuente. En términos generales, el animal “sarnoso” disminuye su ingesta de alimento debido a la incomodidad que ocasiona el prurito, creciente anemia e incluso la muerte. En caso de un parcial control de la parasitosis al fortalecer al sistema inmunitario a partir de una buena alimentación, puede presentarse la sarna crónica, que deriva en la aparición de zonas de alopecia y colgajos de lana. Como se mencionó, la alimentación es fundamental en el mantenimiento de una óptima respuesta inmunológica, por lo que, la carencia de alimento en las temporadas de otoño e invierno pueden ser potenciales causas del desarrollo de esta enfermedad, así como la llegada de nuevos animales al rebaño sin haber sido explorados externamente, cuarentenados y la presencia de una elevada cantidad de animales hacinados (Suárez *et al.*, 2007; Alonso y Miro, 1997).

Enfermedades de origen nutricional y metabólico.

Las insuficiencias o desbalances en la adquisición de nutrientes, tales como carbohidratos, proteínas, vitaminas, macro y micro minerales son factores que repercuten de forma directa en el metabolismo de los pequeños rumiantes. Lo anterior, puede manifestarse, por ejemplo, en la administración de forrajes con bajo valor nutricional o cuando algún nutriente específico sobrepasa la capacidad de asimilación metabólica, provocando consigo irregularidades en la homeostasis. La toxemia de la preñez, urolitiasis, polioencefalomalacia y la deficiencia de vitamina E y selenio, acidosis ruminal subaguda, cetosis lactacional, lipidosis hepática, son algunas de las enfermedades de importancia que impactan en la producción y reproducción, tanto en cabras de baja y alta producción o así mismo a sus crías. El riesgo de presentación y fatalidad de estas enfermedades son determinantes para tomar en cuenta programas adecuados de alimentación y medidas preventivas ante situaciones adversas que permitan la malnutrición de los animales (Simões y Gutiérrez, 2018).

Lentivirus de pequeños rumiantes

Los lentivirus de los pequeños rumiantes causan lesiones inflamatorias crónico degenerativas en diversos órganos: articulaciones, pulmón, cerebro y glándula mamaria de ovinos y caprinos. El cuadro clínico es progresivo y usualmente requiere de meses a años para desarrollarse. En cuanto a la presencia de ambas enfermedades en el territorio mexicano, se

ha descubierto un comportamiento variable de acuerdo a las condiciones climáticas nacionales. Se distribuye ampliamente en los sistemas lecheros estabulados (Arcila *et al.*, 2012; Molina *et al.*, 1986).

Coccidiosis

La coccidiosis es una enfermedad infecciosa de pequeños rumiantes causada por un parásito protozoario del género *Eimeria* que se distribuye en distintas zonas y niveles del intestino delgado de los animales. A nivel mundial es generadora de pérdidas económicas significativas debido a la pérdida de animales jóvenes y a la interrupción del crecimiento a causa de las manifestaciones clínicas. Se caracteriza por ocasionar un cuadro de diarrea aguda en animales lactantes o después del destete (Figura 1) y una presentación subclínica en los adultos y animales jóvenes bien nutridos (Cuéllar Ordaz y Trujillo Soto, n.d).



Fig 1. Diarrea de cabrito con coccidiosis. (Cuéllar Ordaz y Trujillo Soto, n.d)

No todas las especies de *Eimeria* son problemáticas en pequeños rumiantes. Algunas pueden parasitar al hospedador sin causar un daño considerable a la mucosa intestinal, descartándolos como agentes patógenos de importancia. Algunas de las especies más importantes para el ovino son: *E. ovinoidalis*, *E. ashata*, *E. bakuensis* (syn. *E. ovina*), *E. carandallis*, *E. gilruthi* y *E. faurei* (del más virulento al menos respectivamente) y en la cabra: *E. ninakohlyakimovae*, *E. caprina*, *E. alijevi*, *E. arloingi* y *E. apsheronica* (Bangoura y Bardsley, 2020).

El ciclo de vida de *Eimeria* tiene fases: las primeras dos, corresponden a fases de desarrollo interno, la esquizogonia o fase asexual y gametogonia o de tipo sexual, seguido de una esporogonia o esporulación ambiental. El desarrollo interno del parásito toma de una a tres

semanas, con ligeras variaciones dependiendo de la especie involucrada en la infección (Bangoura y Bardsley, 2020).

El diagnóstico se basa generalmente en las observaciones clínicas junto al análisis de la historia y anamnesis. La recolección y análisis de muestras de heces en búsqueda de ooquistes a partir de métodos coproparasitológicos como flotación o McMaster permiten tener un concentrado de estructuras parasitarias, incrementando ampliamente la sensibilidad y la posibilidad de dar un diagnóstico y tratamiento oportuno (Bangoura y Bardsley, 2020).

El enfoque para poder controlar la coccidiosis en pequeños rumiantes es reducir la carga parasitaria hasta niveles no críticos así como la liberación de ooquistes y el mantenimiento de una estabilidad endémica (Dauguschies y Najdrowski, 2005).

La prevención depende del manejo de los animales y las medidas de higiene, debido a la falta de inmunógenos que prevengan la infección. Los animales predispuestos a esta enfermedad, requerirán la ausencia de factores estresantes para no comprometer su sistema inmune y garantizar su eficacia al momento de la infección. Algunos de los factores a considerar son cambios en la dieta, condiciones climáticas adversas, hacinamiento, reagrupamiento de animales y transporte continuo de animales (Bangoura y Bardsley, 2020).

La utilidad del tratamiento farmacológico radica en la reducción de la liberación de ooquistes hasta puntos no críticos. Los medicamentos utilizados para el tratamiento de *Eimeria* se clasifican en coccidiostatos y coccidicidas. Los coccidiostatos como el amprolium, la monensina, lasalocida, salinomicina y el decoquinato son fármacos que se utilizan con fines preventivos, ya que tienen acción sólo sobre las primeras fases evolutivas, deteniendo el desarrollo y reproducción del protozooario. El segundo grupo, los coccidicidas, son moléculas caracterizadas por atacar cualquier fase evolutiva de las coccidias con el objetivo de contrarrestar un brote agudo de coccidiosis clínica. Algunos ejemplos son la sulfametazina, sulfadimidina, sulfaguanidina y sulfaquinoxalina sódica; la combinación de sulfametazina con sulfadiacina y sulfameracina; sulfonamidas con trimetoprim; nitrofuranos (nitrofurazona y furoxona) y el troltrazuril. En conjunto, el tratamiento sintomático como la administración de fluidos, electrolitos y el control del equilibrio de la microbiota intestinal permitirán un pronóstico favorable para los animales afectados (Cuéllar Ordaz y Trujillo Soto, n.d; Bangoura y Bardsley, 2020).

1.5 Técnicas de diagnóstico para coccidiosis

1.5.1 Técnica de McMaster

El diagnóstico de enfermedades parasitarias en los rebaños se ha convertido en una herramienta importante. En la actualidad, los distintos avances científicos orientados al diagnóstico de enfermedades han avanzado en sobremanera, permitiendo realizar análisis más específicos con respecto a características moleculares, inmunológicas y bioquímicas. Desafortunadamente, este tipo de pruebas, en la mayoría de los casos resultan ser procedimientos de alto costo y que obstaculizan el diagnóstico final. Por esta razón, el acercamiento analítico a partir del uso de heces para determinar el conteo de estructuras parasitarias (ooquistes inmaduros, huevos de helmintos y larvas) es el método predilecto en la resolución de casos manifestados en unidades productivas de pequeños rumiantes y otros animales domésticos. La técnica de McMaster fue desarrollada en el laboratorio McMaster de la Universidad de Sydney y aunque se han descrito algunas variantes de ella como sugerentes para el diagnóstico de laboratorio, su metodología original es la de elección, utilizada mundialmente en medicina veterinaria y respaldada por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP por sus siglas en inglés) como prueba de oro para la evaluación de la eficacia de fármacos antihelmínticos en rumiantes (Vadlejch *et al.*, 2011; Wood *et al.*, 1995).

El método de conteo en la cámara de McMaster se basa en el principio de flotación, donde los ooquistes inmaduros presentes en una determinada muestra de heces, expuestas a una solución sobresaturada de cloruro de sodio, se separan de la masa fecal ubicándose en la superficie de dicho líquido, para que posteriormente se tome una alícuota de dicha suspensión y se elabore un conteo de los ooquistes por gramos de heces (Vadlejch *et al.*, 2011, Capello *et al.*, 2020).

1.5.2 Métodos de identificación de especies de *Eimeria*.

La técnica de McMaster permite determinar ooquistes por gramo de heces, aunque su relación con la gravedad de la infección es dependiente de la virulencia de cada especie. El recuento puede ser de cientos de miles de ooquistes por gramos de heces con una evidencia clara de signos clínicos, o en contraparte, la infección puede ser leve con recuentos elevados. Lo anterior indica que la variabilidad de virulencia es dependiente de las distintas especies de *Eimeria* involucradas en la infección, creando una necesidad por la búsqueda de métodos que permitan la diferenciación entre especies (Hernández y Mendoza, 2002; Trejo, 2018).

Para realizar una profundización en las especies de *Eimeria* que puedan verse involucradas en una infección se han diseñado distintos métodos de diagnóstico que permiten hacer una clasificación de acuerdo a características morfológicas y moleculares. El diagnóstico se basa principalmente en la caracterización utilizando la morfometría de ooquistes esporulados. Las especies de este protozoario se identifican de acuerdo a los aspectos de su forma, la presencia o ausencia de micrópilo y tapón de micrópilo, mayor o menor medida del diámetro de los ooquistes y esporoquistes y el índice morfométrico, que se calcula a partir de la división del diámetro mayor entre el diámetro menor (Barreto de Souza *et al.*, 2015).

Ante la necesidad de brindar evidencia particular sobre las especies de *Eimeria* que pueden involucrarse en la coccidiosis y debido a la subjetividad que puede padecer la evaluación morfométrica debido a la necesidad de amplia experiencia en la comparación de tamaños entre especies, meticulosa medición de las estructuras microscópicas y variaciones intra especie, se han desarrollado ensayos de genética molecular, basados en diseños de sondas de ADN para identificar algunas especies de este género (Kawahara *et al.*, 2010).

En diversos estudios moleculares se ha utilizado al gen 18S rRNA como una aproximación para realizar un análisis filogenético y de variaciones en la secuencia del ADN de algunas especies de importancia de *Eimeria* en ovinos como *E. cardinallis* y *E. ahsata*, comparándolas con genomas de otras especies del protozoo existentes en el GenBank y que permitan tener una visión más amplia sobre cómo la diferencia entre la cantidad de nucleótidos presentes en el gen marcan la variación entre especies (Kawahara *et al.*, 2010)

Gracias al amplio conocimiento que se ha adquirido acerca de la variabilidad genética de los protozoarios de la familia *Apicomplexa* se ha descrito otro método útil como recurso para la identificación de especies de *Eimeria*, en particular en bovinos a partir del uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Al utilizar este método, el objetivo en el que se ha prestado especial atención es en el espaciador transcrito interno 1 (ITS-1), una región derivada de genes del ARN ribosomal (rARN). Este espacio presenta una amplia heterogeneidad en la composición de la secuencia genética y la longitud como comparativa entre las distintas especies, estas características son posiblemente beneficios que generan la posibilidad de crear cebadores específicos para esta región, para que pueda realizar una determinación específica de especie más eficaz. En otros estudios, se ha descrito la diversidad inter-especie mostrada en regiones ITS-1 de *Eimeria* de pollos para su posterior uso con propósito de diagnóstico. A partir de ello, se ha logrado la aplicación de ensayos PCR en tiempo real para la diferenciación de especies. Otro estudio en bovinos permitió el reconocimiento de seis especies del género a partir del ITS-1, determinando que cada una de

las especies encontradas, tenían suficiente variación de secuencia interespecífica para llevar a cabo el diseño de cebadores para cada especie. Esto, además de resultar útil como método para la diferenciación de especies de *Eimeria*, muestra una mayor eficacia en cuanto a la detección y diferenciación del parásito en comparación con el método coproparasitoscópico convencional (Kawahara *et al.*, 2010; Trejo, 2018).

I. JUSTIFICACIÓN

La coccidiosis es causante de grandes pérdidas financieras debido a las implicaciones en cuanto a costos de tratamiento y disminución del crecimiento. Su presentación es un reto para una unidad productiva, debido a que su afectación es específica de animales jóvenes, pilares de muchas unidades de producción, ya sea como animales de reemplazo o de venta en pie, por lo que juegan puntos de venta fundamentales para la subsistencia familiar (Grajales *et al.*, 2019).

México es el segundo país mayor productor de pequeños rumiantes en Latinoamérica y estados como Hidalgo, México, Veracruz, Puebla, Zacatecas, Oaxaca, San Luis Potosí y Coahuila dependen económicamente del desarrollo de esta actividad. La presentación de esta enfermedad, atenta contra la estabilidad de las unidades de producción y es necesario conocer a profundidad las características del agente causal para poder llevar un abordaje eficaz.

Al tratarse de un problema integral que aqueja a la mayoría de los productores y médicos veterinarios y zootecnistas mexicanos dedicados a la producción caprina y ovina, el diagnóstico del agente involucrado se vuelve particularmente importante.

Recientes estudios apuntan que hay algunos componentes del genoma de *Eimeria* que podrían ser utilizados para desarrollar nuevos métodos de análisis molecular, componentes que se han estudiado ampliamente en pollos y bovinos, dejando un espacio vacío para la investigación en medicina de pequeños rumiantes. Abrir un espacio de comparación y búsqueda de información que permita encontrar nuevos estudios involucrados específicamente en las especies de importancia en ovinos y caprinos, permitirá al médico veterinario zootecnista conocer la relación que existe entre la especie de *Eimeria* identificada y su virulencia para la posterior determinación de un pronóstico más certero.

II. OBJETIVO GENERAL

Presentar información actualizada sobre los métodos de identificación para las especies de *Eimeria spp* presentes en pequeños rumiantes.

III. OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer la importancia de la coccidiosis en los sistemas de producción de pequeños rumiantes.
- Describir las características del género *Eimeria* y su padecimiento (coccidiosis), haciendo hincapié en las generalidades sobre su taxonomía, morfología y ciclo de vida como fundamentos en la identificación de especies.
- Conocer los métodos empleados para la identificación y diferenciación de especies en pequeños rumiantes.
- Describir el fundamento del diagnóstico morfológico de especies de *Eimeria*, así como los materiales empleados, su forma de realización y evaluación.
- Describir el fundamento del diagnóstico molecular a partir de la amplificación de la región ITS-1 como método de identificación de especies de *Eimeria*.

IV. METODOLOGÍA

Adentrarse en distintos sitios de divulgación científica cuyo acceso es libre para la Universidad Nacional Autónoma de México, como es el caso de PubMed, Scielo, ELSEVIER, Research Gate, Science Direct, Scopus, entre otros, que permitan consultar publicaciones recientes, actualizadas y aprobadas como documentos de divulgación de la ciencia con relación a las pruebas de esta investigación. Se utilizarán igualmente libros y textos de parasitología veterinaria que permitan disponer de información teórica sobre la biología general del agente a estudiar. A través de la misma investigación, se desarrollará una comparativa entre los distintos métodos de diagnóstico encontrados evaluando su eficacia en cuanto a la evidencia de diversidad de las especies del género *Eimeria*.

CAPÍTULO 1

Importancia de la coccidiosis en los sistemas de producción

La eimeriosis o coccidiosis es una endoparasitosis que, en rumiantes, se presenta en dos formas: aguda, que se caracteriza por diarrea en animales jóvenes y subclínica que causa un deterioro de la función intestinal, la cual compromete el crecimiento de los animales con la consecuente disminución de su desempeño productivo. Por lo anterior, la coccidiosis tiene una repercusión económica importante debido a su elevada prevalencia en varias partes del mundo (Barreto de Souza *et al.*, 2015).

Es considerada una enfermedad de rebaño, lo que incrementa el compromiso económico y la dinámica de la unidad de producción. Se caracteriza por tener un ciclo de vida sencillo que permite la contaminación de un mayor número de animales en poco tiempo. Durante la fase subclínica, los animales adultos son capaces de confrontar la enfermedad inmunológicamente para mantener la carga parasitaria bajo el nivel crítico pero continúan excretando una baja cantidad de ooquistes, que para animales jóvenes incompetentes inmunológicamente resulta grave, ya que en ellos, al tratarse de su primera infección, la reproducción del agente y la excreción de ooquistes es más eficaz, trayendo como consecuencia la contaminación del ambiente para continuar con el ciclo de transmisión a otros animales jóvenes. Por lo anterior, es notable que la eficiencia de transmisión del parásito es mayor en granjas con elevadas densidades de animales y altas cantidades de animales jóvenes. Aunque todos los sistemas de producción se encuentran en riesgo de ser afectados por infecciones por coccidia, las producciones en estabulación estricta corren mayor riesgo (Figura 2). El modo de transmisión es fecal oral, aunque también puede ser introducido a un rebaño con herramientas de trabajo y alimento contaminado aunque en menor medida.

La supervivencia del agente es otro factor que complica su control. Los ooquistes de *Eimeria* son capaces de mantenerse viables e infecciosos por al menos un año y, además, soportan condiciones ambientales extremas como temperaturas extremadamente frías y calientes, cambios extremos de pH y la disminución de la saturación ambiental de oxígeno debido al grosor de la pared del ooquiste. Pocos estresores químicos y físicos son capaces de inactivar a los ooquistes, sin embargo, la exposición directa a rayos de luz ultravioleta durante varias horas, la sequedad extrema y temperaturas constantes mayores a 39° Celsius son capaces de deteriorar la integridad de los ooquistes y prevenir la esporulación (Bangoura y Bardsley, 2020; Roesicke y Greuel, 1992).



Fig 2. Sistema de producción de cabras lecheras con evidente hacinamiento de animales y mezcla de animales jóvenes con adultos. (Cuéllar Ordaz y Trujillo Soto, n.d)

La prevalencia global de la coccidiosis es elevada considerando que está presente en todas las especies de rumiantes y otras especies animales y además es una enfermedad en la que se involucran una o más especies del género *Eimeria*. Un estudio realizado en Inglaterra, indica que la prevalencia de la eimeriosis en cabras es del 98%. En ovinos, se detectó en un rebaño de Louisiana que el 86% de animales fueron positivos a una variedad de especies de *Eimeria* (Bangoura y Bardsley, 2020)

Se estima en ovinos y caprinos una pérdida global anual por arriba de los 140 millones de dólares. Estas pérdidas son consecuencia de la mortalidad, la inversión en tratamientos dirigidos a ciertos grupos de animales, tratamiento sintomático de animales diarreicos, inminente susceptibilidad de animales infectados al desarrollo de infecciones secundarias y disminución de la productividad animal. Además de los efectos agudos de la enfermedad, se han propuesto impactos a largo plazo en los que se incluyen la disminución en la conversión alimenticia, la ganancia de peso y la vida útil relacionada con la fertilidad (Fitzgerald, 1980; Laseen y Ostergaard, 2012). Otro factor de importancia es considerar que la presentación subclínica de esta enfermedad representa mayores pérdidas productivas que la coccidiosis clínica, esto debido a que más animales son afectados y los efectos a largo plazo causados por la reducción de la integridad intestinal son considerablemente negativos (Bangoura y Bardsley, 2020).

En México, la producción caprina y ovina son sumamente importantes en el ingreso y oportunidad laboral de sectores poblacionales particulares, cuya ganancia atribuida a estas actividades es beneficiosa para familias que acostumbran a la producción tradicional o en algunos casos para empresas que emprenden en la distribución de productos de origen pecuario. Una de las principales dificultades que enfrenta la ovinocultura, es la presentación de enfermedades entéricas, las cuales son causadas generalmente por parásitos del género *Eimeria*. En rebaños ovinos del Estado de México tiene una prevalencia del 80 al 100% afectando tanto a animales pre- destetados, post- destetados y adultos, siendo los dos primeros los más susceptibles a desarrollar la enfermedad (Trejo, 2018). Por su parte, en el ganado caprino se registró en estudios del estado de Guerrero una prevalencia de 85.3%. Aunque pudiesen existir variaciones con respecto al sistema en el que se realizó el estudio, se aclara que las variables asociadas al tipo de unidad de producción con respecto a la presentación de *Eimeria* carecen de significancia (Figuroa et al., 2018).

La coccidiosis es una enfermedad ampliamente distribuida a nivel mundial y de repercusiones económicas importantes. Para que productores y médicos veterinarios sean capaces de reducir en alto grado las afectaciones de esta enfermedad en las unidades de producción se requiere conocer su interacción con el hospedador y su ambiente, evaluar los riesgos consecuentes por la presencia de los parásitos y familiarizarse con métodos que permitan la adecuada detección del agente para dar un tratamiento efectivo (Chartier y Paraud, 2012; Sargison, 2011).

CAPÍTULO II

Características morfológicas de *Eimeria spp.*

2.1. Generalidades de los protozoarios.

Los protozoos son células eucariotas simples. A partir de su nombre proveniente del griego (proto: primero; zoo: animal) se sugiere que son de los seres vivos más antiguos. Su tamaño microscópico y formación de quistes les han permitido resistir a condiciones ambientales adversas por lo que varias especies de este reino son cosmopolitas (Álvarez, 2006).

Morfológicamente son organismos pequeños de entre 3 y 100 micrómetros; con simetría bilateral, radial o esférica. Su forma es variada, teniendo organismos ovalados, alargados, esféricos u otros en algunas especies. Su núcleo es diferenciado, único o múltiple, además, de contar con partes estructurales como orgánulos. La locomoción es realizada con la ayuda de

pseudópodos, cilios o flagelos. Algunos géneros cuentan con cápsulas protectoras; otros son capaces de formar ooquistes que les permiten sobrevivir a condiciones ambientales adversas o facilitar su dispersión (Álvarez, 2006; Rubio *et al.*, 2017).

La nutrición de los protozoarios está relacionada con la capacidad de síntesis del organismo. En la toma de alimento, intervienen orgánulos y estructuras encargadas también del movimiento. De acuerdo al procesamiento del alimento, los protozoos pueden ser organismos de nutrición holofítica u holozóica. La primera es característica de organismos del filo ocofita (algas unicelulares o coloniales marinas o de suelo), dependiente de los carbohidratos sintetizados por los cloroplastos de la célula y la segunda es típica de protozoos parásitos, que se nutren al ingerir organismos enteros o partículas de ellos mediante procesos de fagocitosis y/o pinocitosis. A la llegada del alimento al citoplasma de la célula, queda encerrado en una vacuola digestiva donde se inicia la digestión enzimática; los restos no digeridos en la vacuola digestiva son expulsados al exterior mediante el vaciado de la vacuola (García *et al.*, 2008).

En cuanto a su papel ecológico, estos organismos suelen ser de vida libre, comensales, mutualistas o parásitos. El establecimiento de esta última relación interespecífica resulta ser de importancia en salud pública por su contribución al desarrollo de enfermedades en animales y seres humanos (Álvarez, 2006).

El ciclo de vida de estos organismos es fundamental para el entendimiento de su importancia en el equilibrio ecológico. El protozoario resulta en cambios fisiológicos y morfológicos que le permiten sobrevivir a lo largo del ciclo de vida dependiendo de uno o más hospedadores. A aquellos que requieren solo uno se les denomina monoxenos y a los que cuyo ciclo biológico depende de más de uno se les denomina heteroxenos. En el último caso, un hospedador actúa como intermediario o reservorio y otro como definitivo (Rubio *et al.*, 2017).

Sus mecanismos de reproducción pueden ser sexual, asexual (en la que la mayoría de los protozoarios participan) o ambas. La fisión o escisión binaria es la forma de reproducción asexual más extendida. A partir de una célula madre se forman dos células hijas. En la fisión múltiple o esquizogonia, el núcleo de la célula madre se divide varias veces y cada núcleo se rodea posteriormente de una porción de citoplasma, dando lugar a células hijas (García *et al.*, 2008).

La gemación es otro tipo de reproducción asexual que se realiza en algunos protozoarios; el proceso es una mitosis simple con desigual división celular. Este tipo de reproducción puede ser exógena (los sitios a donde emigran los núcleos hijos se forman en el exterior de la célula madre) o endógena que cuenta con dos modalidades: endodiogenia (cada célula que se divide produce dos células en el interior de la membrana citoplasmática de la célula madre) o endopoligenia (cada célula da origen simultáneamente a otras células) (García *et al.*, 2008).

La esporulación es otro fenómeno de reproducción asexual cuya funcionalidad es mixta: de resistencia y multiplicación. La esporogonia típica se produce posterior a la reproducción sexual. Tiene varias modalidades, en las que cabe destacar la de los apicomplejos. El cigoto resultante de la reproducción sexual se convierte en un elemento de resistencia (ooquiste) el cual divide su esporonte en esporoblastos, cada uno de los cuales se organiza como una espora (esporocisto) y por división forma en su interior los esporozoitos infectantes (García *et al.*, 2008).

El mecanismo de reproducción sexual es anfimítico, es decir, mediante la unión de gametos haploides, o pronúcleos de fecundación, procedentes de individuos separados. Existen dos vertientes de reproducción sexual: la conjugación, presente en protozoos ciliados principalmente y la singamia, singular del resto de protozoarios. La singamia se refiere a la fusión de dos gametos. Cuando estos gametos son aparentemente iguales se nombra al proceso como isogamia. Si son diferentes, se le denomina anisogamia y se describe la presencia de un microgameto (más pequeño y móvil, muchas veces flagelado) y un macrogameto (más grande, con reservas en su citoplasma y que permanece inmóvil) (García *et al.*, 2008).

2.2. Phylum Apicomplexa.

El infra reino *Alveolata* es un super grupo eucariótico proveniente del reino *Protozoa* que comprende diversos grupos de protistas que comparten características genéticas y ultraestructurales. Entre estos grupos, se encuentra el filum *Apicomplexa*, un conjunto de miles de organismos parásitos intracelulares obligados no fotosintéticos capaces de infectar a un alto rango de especies vertebradas e invertebradas. Son incluidos como agentes patógenos de alta relevancia y estudio en la medicina humana y veterinaria (Dos Santos *et al.*, 2020).

Todos los organismos pertenecientes a este filum poseen las siguientes características:

Existencia del complejo apical, un organelo exclusivo completo o incompleto que permite la invasión intracelular (Gállego, 2007).

Parasitismo intracelular obligado, al menos durante sus fases o estadios de multiplicación asexual (Gállego, 2007).

Un ciclo biológico metacíclico, durante el cual se suceden tres fases: una de multiplicación asexual o agamogónica; una de formación de gametos o gamogónica, que termina con la formación de un cigoto; y una tercera, la esporogónica, durante la cual, y a partir de divisiones del cigoto, se forman esporozoitos encargados de pasar el parásito, directa o indirectamente, a un nuevo hospedador (Gállego, 2007).

La estructura de los trofozoitos es distinguible únicamente con el auxilio de la microscopía electrónica (M.E) (Figura 3).

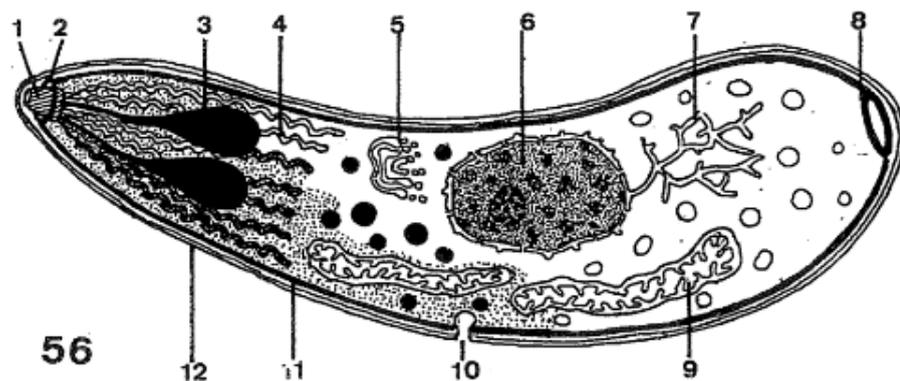


Fig. 3. Morfología al M.E. de un zoito de Apicomplexa. 1. Conoide 2. Anillo polar anterior 3. Robtrias 4. Micronemas 5. Aparato de Golgi 6. Núcleo 7. Reticulo endoplásmico 8. Anillo polar posterior 9. Mitocondria 10. Microporo 11. Microtúbulos subpeliculares 12. Película. (Gállego, 2007)

Se trata de elementos de forma oval alargado, de unos pocos micrómetros de largo, más o menos atenuado en su extremo polar o anterior. Su citoplasma está limitado por una membrana laminar o película reforzada en su cara interna por una serie de microtúbulos más o menos numerosos, que recorren longitudinalmente el cuerpo del zoito; estos microtúbulos finalizan en sus extremos, en unas estructuras anulares, el anillo polar anterior, muy próximo a su región apical, y el anillo polar posterior, cercano al extremo posterior del zoito. En la película se abren uno o más microporos, cuya pared se forma por la membrana plasmática únicamente (Gállego, 2007).

El complejo apical se compone por el conoide, las roptrias y los micronemas. El conoide es un organelo en forma de cono truncado que se sitúa a nivel del anillo polar anterior y cuya pared está formada por varias capas de estructuras microfibrilares, dispuestas helicoidalmente. Las roptrias son de aspecto piriforme con una región anterior estrecha que se extiende por la luz del conoide y hasta su ápice, donde desembocan. Finalmente, los micronemas son estructuras en forma de tirabuzón que se prolongan desde el conoide hasta aproximadamente el final del primer tercio del cuerpo del zoito (Gállego, 2007).

Los organismos de este filum tienen ciclos sexuales y asexuales. La multiplicación asexual dentro de los hospedadores se lleva a cabo mediante un proceso de fisión múltiple llamado esquizogonia. El núcleo del trofozoito se divide en varias partes, y forman un esquizonte multinucleado. El citoplasma se condensa alrededor de cada porción nuclear para formar nuevas células hijas, o merozoitos que estallan desde su ubicación intracelular para invadir nuevas células. Después de la compleción de uno o más ciclos asexuales, algunos merozoitos se diferencian hacia gametocitos masculinos y femeninos, e inician la fase sexual del ciclo de vida. En algunos apicomplexas este proceso se puede llevar a cabo en las células intestinales. Posteriormente, el cigoto se convierte en un ooquiste inmaduro que permitirá la formación de esporozoitos mediante un proceso asexual de esporogonia (Ryan y Ray, 2017).

2.3. *Eimeria spp.*

La coccidiosis de los rumiantes es causada por un grupo de parásitos unicelulares del género *Eimeria* del cual distintas especies son de importancia clínica ya que afectan el tracto gastrointestinal principalmente. En contraste con otros protozoarios del filum apicomplexa, *Eimeria* experimenta un ciclo de vida monoxeno (de un solo hospedador). No son transmisibles entre diferentes rumiantes domésticos. La enfermedad por coccidios se produce en dos presentaciones aguda o subclínica y comúnmente predispone al desarrollo de enfermedades secundarias. Es importante mencionar también que no todas las especies del género *Eimeria* son agentes causantes de enfermedad. Son capaces de parasitar a los hospedadores, pero no necesariamente causan un daño grave a la mucosa intestinal (Bangoura y Bardsley, 2020).

2.3.1. Especies de *Eimeria spp.*

Una gran cantidad de especies han sido descritas en rumiantes. Se desconocía la variabilidad de especies en pequeños rumiantes, incluso se pensaba que compartían las mismas.

Actualmente, se han observado en ovinos, 12 especies de *Eimeria* intestinal y una abomasal. En cabras, se han descrito 10 especies de *Eimeria* intestinales. A continuación, se muestra una tabla que expone las especies de importancia clínica causantes de coccidiosis en pequeños rumiantes, demostrando gráficamente su nivel de virulencia (Bangoura y Bardsley, 2020) (Tabla 2).

Tabla 2. Especies de <i>Eimeria</i> en pequeños rumiantes domésticos según su hospedador.		
Virulencia	Ovino	Caprino
+++	<i>E. ovinoidalis</i>	<i>E. ninakohlyakimovae</i> <i>E. caprina</i>
++	<i>E. ahsata</i> <i>E. bakuensis</i> (syn. <i>E. ovina</i>) <i>E. crandallis</i> <i>E. gilruthi</i>	
+	<i>E. faurei</i>	<i>E. alijeви</i> <i>E. arloingi</i> <i>E. apsheronica</i>
-	<i>E. granulosa</i> <i>E. intricata</i> <i>E. marsica</i> <i>E. padilla</i> <i>E. parva</i> <i>E. punctata</i> <i>E. weybridgensis</i>	<i>E. caprovina</i> <i>E. christenseni</i> <i>E. hirci</i> <i>E. jolchijevi</i> <i>E. kocharli</i>

Especies de *Eimeria* en pequeños rumiantes domésticos según su huésped.
Virulencia determinada como +++, alta; ++, moderada, +, baja; -, no presente. (Bangoura & Bardsley, 2020)

2.3.2. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *Eimeria* se contiene en tres fases esencialmente; las primeras dos fases son dentro del hospedador involucrado (replicación sexual y asexual), seguido de una esporogonia ambiental (esporulación). El desarrollo interno promedio del parásito toma desde una a tres semanas y va variando de acuerdo a la especie específica de *Eimeria* involucrada. El ciclo de esta especie es monoxeno por lo que un solo hospedador es necesario para el desarrollo de su ciclo de vida. Este inicia con la infección a partir del ooquiste esporulado, estructura localizada en el ambiente y que cumple su función como la fase infectante del parásito. Estos ooquistes son ingeridos por el hospedador en un ambiente contaminado,

siendo tragados y transportados al intestino a consecuencia del proceso digestivo. Bajo la influencia de la pepsina, bilis, tripsina, temperatura y pH se lleva a cabo la ruptura del ooquiste, promoviendo la salida de los contenidos infecciosos (esporozoitos). Cada ooquiste esporulado contiene un total de ocho esporozoitos. Cada uno de ellos invade una célula intestinal y permanece dentro del enterocito en una vacuola parasitófora. El parásito es capaz de obtener nutrientes a partir de las células del hospedador a través de la pared de la vacuola. Dentro de esta, comienza la replicación del parásito por ciclos de replicación asexual, también conocida como esquizogonia. Conceptualmente la esquizogonia es una fisión múltiple, desatando la formación de varias células hijas a partir de una etapa inicial. La mayoría de las especies de este grupo presentan dos ciclos esquizogónicos consecuentes. Durante cada esquizogonia, cientos de miles de merozoitos se forman en cada célula hospedadora infectada. Posterior a la conclusión de un ciclo esquizogónico, los merozoitos destruyen al enterocito para promover su salida e invadir células vecinas. Posterior a algunos ciclos de replicación asexual, el parásito ingresa a la fase de replicación sexual, la gametogonia. Dentro de la célula hospedadora, se lleva a cabo la formación de una fase masculina llamada microgameto y una femenina llamada macrogameto. El microgameto libera varios microgametos, fases móviles que buscan y fertilizan al macrogameto. Esto desencadena la formación de un cigoto que madura posteriormente en un ooquiste. El ooquiste abandona la célula hospedadora y es eliminado por la materia fecal. Al ser liberados al ambiente, no son automáticamente viables para una infección, sino que necesitan un periodo de adaptación para adquirir la infectividad. A este proceso se le llama esporulación y es determinado por la temperatura ambiental y las condiciones de la tierra. Bajo condiciones óptimas, la esporulación puede tomar lugar de dos a tres días. El ooquiste infectante final contiene cuatro vesículas cubiertas de una membrana interna, los esporoquistes contienen dos esporozoitos, siendo que cada ooquiste esporulado contiene ocho esporozoitos infectantes. Estos ooquistes maduros son exclusivamente transmitidos por vía horizontal fecal-oral. El hospedador susceptible adquiere las fases infectantes al ingerir comida, agua o lamiendo superficies contaminadas con los ooquistes. De acuerdo con el ciclo biológico, la coccidiosis es una infección autolimitante porque no quedan rastros del parásito dentro del intestino después de que se completa el ciclo de vida y se excretan los ooquistes, sin embargo, la excreción de los ooquistes promueve en el rebaño una reinfección continua (Bangoura y Bardsley, 2020).

CAPÍTULO III

Clasificación de los métodos diagnóstico de *Eimeria spp.*

3.1. Diagnóstico morfológico

El diagnóstico de la coccidiosis comúnmente se basa en las observaciones clínicas bajo la aparición de problemas digestivos en animales jóvenes criados en ambientes higiénicamente pobres o sometidos a situaciones estresantes durante su crecimiento. Complementario a los avistamientos clínicos, la examinación en la necropsia resulta útil al encontrar lesiones en los intestinos.

Los exámenes coproparasitológicos deben cuantificar e identificar las especies más virulentas de *Eimeria* a partir de la técnica de McMaster con solución saturada de cloruro de sodio, adicional a la flotación convencional. La flotación permite la concentración de ooquistes en alícuotas para ser observadas en el microscopio mientras que McMaster permite obtener un conteo de ooquistes por gramo de heces (Figura 4) (Bangoura y Bardsley, 2020).



Fig. 4. Toma de muestra para un examen coproparasitológico (Cuéllar Ordaz y Trujillo Soto, n.d).

3.1.1. Técnica de flotación de Willis

La técnica de flotación permite la separación de quistes de protozoos y otras estructuras parasitarias del exceso de residuos permitiendo que estructuras de menor densidad floten en una solución de densidad mayor. Los elementos parasitarios son recuperados de la capa superficial y los residuos se mantienen en el fondo del tubo. Los materiales que se emplean para la elaboración de esta técnica son:

- Microscopio compuesto.
- Centrifuga para tubos.
- Balanza analítica.
- Vaso de precipitado.
- Embudo.
- Tubo de ensayo.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Abate lenguas .
- Solución saturada de cloruro de sodio (NaCl)
Preparada a partir de la disolución de 400 g de cloruro de sodio en 1000 mL de agua.
- Solución de yodo lugol.

Para el desarrollo de la técnica se recomienda seguir el siguiente procedimiento:

- 1) Tomar entre 1 y 2 gramos de heces con abatelenguas.
- 2) Colocar la muestra en un vaso de precipitado y mezclar con 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio.
- 3) En un tubo de ensayo, filtrar la mezcla con una gasa, llenando completamente el tubo.
- 4) Colocar un portaobjetos sobre el tubo de manera que el líquido haga contacto con el portaobjetos.
- 5) Esperar de 5 a 10 minutos
- 6) Los quistes o huevos flotarán y quedarán adheridos a la cara del portaobjetos que está en contacto con la mezcla.
- 7) Colocar una gota de yodo lugol en el portaobjetos y colocar el cubreobjetos.
- 8) Examinar la muestra al microscopio con el objetivo 40x, buscando quistes.

La expresión de resultados permite distinguir si la prueba es positiva o negativa en el hallazgo de estructuras parasitarias (ooquistes inmaduros para el caso de *Eimeria*). De igual modo permitirá conocer la especie en cuestión al observar su morfología, así como la densidad parasitaria. Esta se reporta de la siguiente manera (Tabla 3):

Número de formas parasitarias encontradas	Expresión del resultado
1 a 4	+
4 a 8	++
9 a 13	+++
Más de 13	++++
No hay presencia de ooquistes	Negativo

Tabla 3. Reporte de resultados para la técnica de flotación de Willis (Navone et al., 2005)

3.1.2. Técnica de McMaster.

Esta técnica es usada para la demostración y contabilización de huevos de helmintos y estructuras quísticas de protozoarios en muestras fecales. Utiliza cámaras de conteo que posibilitan el examen microscópico de un volumen conocido de suspensión fecal. Si se usa un peso de heces y un volumen de líquido de flotación conocidos para preparar dicha suspensión, entonces el conteo de ooquistes por gramos de heces (h.p.g) puede ser calculado a partir de multiplicar el número de ooquistes dentro de las áreas marcadas por un factor de conversión. La cámara de McMaster tiene dos componentes, cada uno marcado con una rejilla sobre la superficie superior. Cuando la cámara es llenada con una suspensión de heces en fluido de flotación, muchos de los detritos se irán al fondo mientras las estructuras de interés flotan hacia la superficie en donde pueden ser fácilmente vistos y contados. Para la elaboración de este método se requerirá el siguiente equipo de laboratorio:

- Dos vasos o recipientes de plástico.
- Báscula.
- Un colador.
- Probeta graduada.
- Instrumento para mezclar.
- Pipetas Pasteur.
- Solución saturada de cloruro de sodio.

Preparada a partir de la disolución de 400 g de cloruro de sodio en 1000 mL de agua.

- Cámara de conteo McMaster.
- Microscopio compuesto.

El procedimiento recomendado para la elaboración del método se enlista a continuación:

- 1) Pesar cuatro gramos de heces y colocar dentro de un recipiente.

- 2) Añadir 56 mL de solución saturada de NaCl.
- 3) Revolver cuidadosamente los contenidos del recipiente.
- 4) Filtrar la suspensión fecal con el colador en un segundo recipiente.
- 5) Revolver el filtrado con una pipeta Pasteur.
- 6) Llenar el primer compartimento de la cámara con una submuestra.
- 7) Mezclar el fluido y llenar el segundo compartimento con otra submuestra.
- 8) Dejar reposar la cámara para permitir que los ooquistes floten hacia la superficie.
- 9) Observar la muestra con el microscopio compuesto.

La obtención de resultados puede ser calculada contando el número de estructuras dentro de la rejilla de cada cámara, ignorando aquellos fuera de los cuadros. A continuación, se suma el conteo de ambas cámaras y el resultado se multiplica por 50, obteniendo así la cantidad de ooquistes por gramo de heces. En ganado, se considera la excreción de más de 500 ooquistes por gramo de heces de especies virulentas como un hallazgo significativo (Bangoura y Bardsley, 2020; Gibbons et al., n.d.).

Los métodos anteriores aseguran una sensibilidad significativa e incluso son de las técnicas de diagnóstico más utilizadas para este género, sin embargo, el hallazgo de ooquistes de *Eimeria* no es un diagnóstico definitivo sino que se debe realizar un reconocimiento de las especies involucradas siendo que sus grados de virulencia cambian. Existen grandes variaciones en la cantidad de ooquistes que un animal hospedador puede secretar (Bangoura y Bardsley, 2020).

La identificación de especies de *Eimeria* se basa en el criterio morfológico de ooquistes, esencialmente posterior a la esporulación sometiendo materia fecal contaminada a temperatura ambiente de dos a tres días o posterior a una disolución de dicromato de potasio al 2% e incubación a 25° C. El criterio para el diagnóstico de los ooquistes incluye la forma, el tamaño y la presencia de elementos característicos como el casco polar, micrópilo, color, aspecto de la pared del ooquiste, residuos ooquisticos y esporoquisticos (Chartier y Paraud, 2012).

La morfología y el tamaño de las diferentes especies de *Eimeria* de pequeños rumiantes es variable, siendo las formas esféricas, semiesférica, ovoide o elipsoidales las más reportadas (Figura 5 y figura 6). Al observar el ooquiste puede notarse una pared compuesta por una o más capas que generalmente se visibilizan transparentes con un contorno doble bien definido pudiendo estar limitada por una membrana. Por otro lado, algunas especies pueden tener la pared antes descrita de color amarillo o verde. El ooquiste puede o no tener una abertura en el extremo anterior, cubierto o no por un tapón (capuchón polar). En el interior

del ooquiste esporulado se encuentran cuatro esporoquistes y a su vez dos esporozoitos, cada esporoquiste posee un cuerpo de Stieda que cuando está bien definido indica que el ooquiste está completamente esporulado (Figura 7).

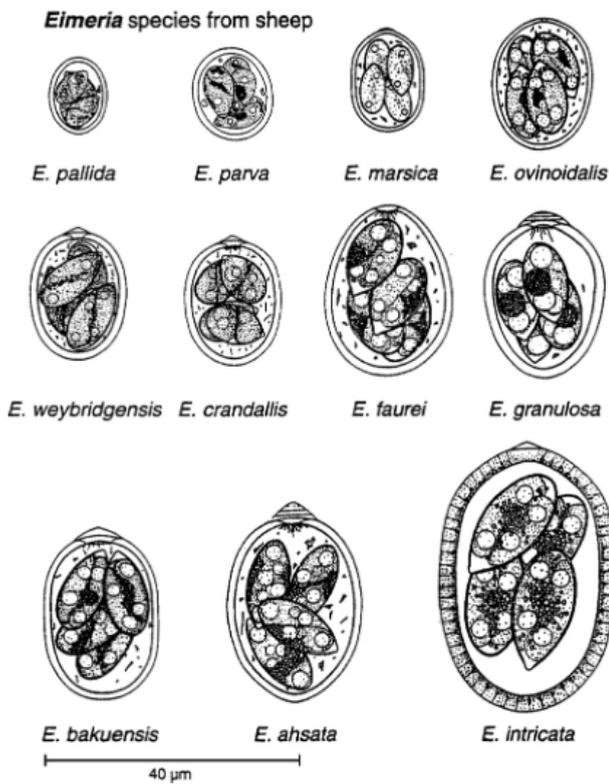


Fig. 5. Ooquistes esporulados de algunas especies de *Eimeria* en ovinos (Eckert et al., 1995).

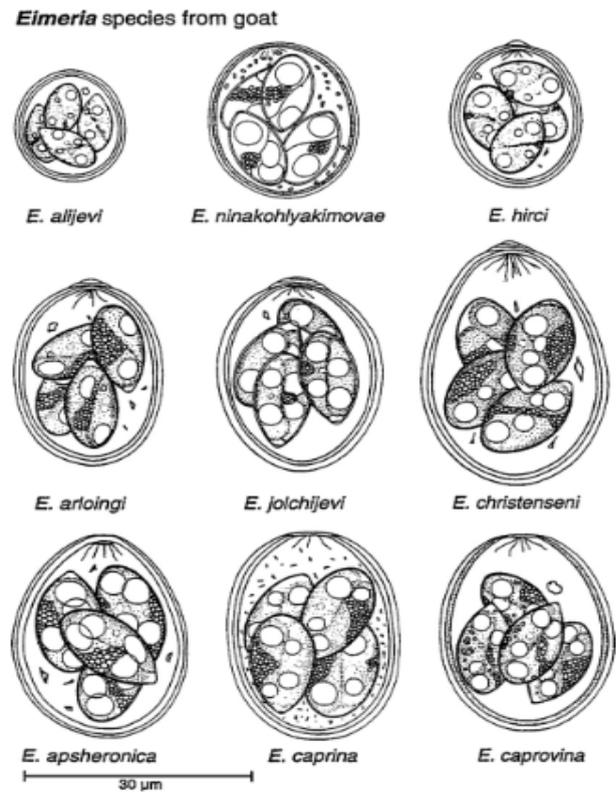


Fig. 6. Ooquistes esporulados de algunas especies de *Eimeria* en caprinos (Eckert et al., 1995).

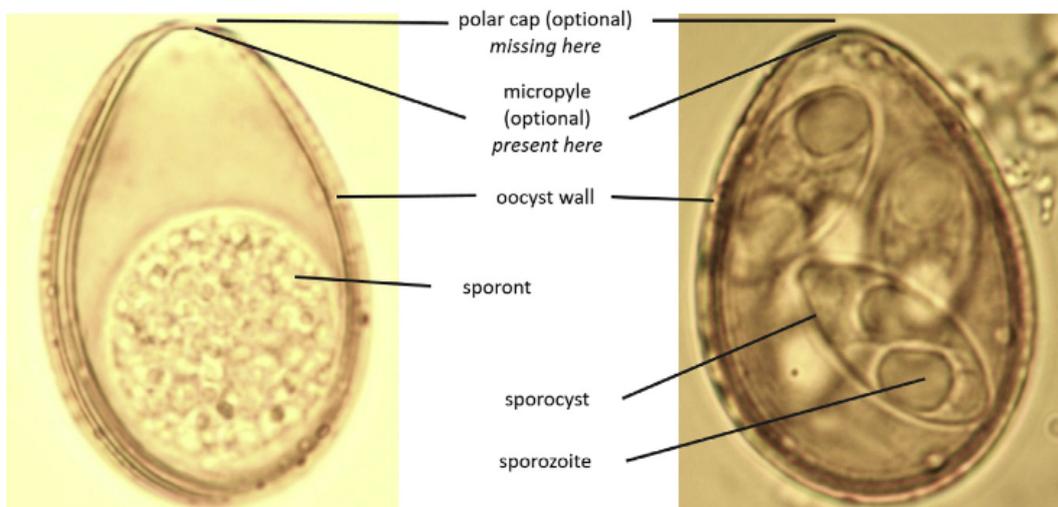


Fig. 7. Morfología del ooquiste de *Eimeria* resaltando los nombres de sus estructuras principales (Bangoura y Bardsley, 2020).

Como se mencionó, el proceso de esporulación es necesario para llevar a cabo la diferenciación morfológica de las especies de *Eimeria*. El desarrollo de este proceso se logra a partir de proporcionar condiciones favorables de humedad, temperatura y oxígeno en el ambiente o *in vitro*. El resultado es la segmentación del protoplasma en pequeños cuerpos llamados esporozoitos que se encuentran dentro de los esporoquistes que a su vez se encuentran dentro del ooquiste (Hernández y Mendoza, 2002). El proceso de identificación morfológica para especies de *Eimeria* comienza con la recolección de una cantidad determinada de heces contaminadas con ooquistes de *Eimeria*, ya en el laboratorio, las muestras son expuestas a una solución de dicromato de potasio al 2%, mezclando adecuadamente y vertiendo posteriormente en una caja de Petri a una profundidad de no menos de 1 cm y bajo observación en un cuarto oscuro para facilitar la esporulación. A continuación, una muestra del sobrenadante es tomada para ser transferida a un portaobjetos y ser observada al microscopio. La observación de los ooquistes esporulados se lleva a cabo en un microscopio óptico y las imágenes son capturadas por cámaras digitales compatibles. En un estudio se describe el uso de una cámara digital de micro imágenes Olympus DP71 anexada al microscopio y utilizando un aumento de 100x con aceite de inmersión (Al-Habsi et al., 2017).

La caracterización morfológica de especies de *Eimeria* en pequeños rumiantes, se basa en la comparativa de observaciones y descripciones realizadas por investigadores previos y estudios recientes. A continuación, se presenta el ejemplo de la comparación obtenida de Al-Habsi et al., 2017 en donde a partir de tres estudios realizados por otros autores determina las especies de *Eimeria* involucradas en su reporte (Tabla 4 y Tabla 5) así como una recopilación de tres microfotografías de ooquistes inmaduros de las especies *E. arloingi*, *E. christenseni* y *E. hirci* (Figura 8).

Tabla 2. Características morfológicas de ooquistes de *Eimeria spp* de cabras en pastoreo comparadas con reportes previos.

		Ooquiste							
Especie	Hospedador	Forma	Altura (µm)	Ancho (µm)	Media del índice de forma	Pared	Cachucha micropolar	Gránulo polar	Referencia
<i>E. christensen</i> Observada	Caprino	Elipsoide- ovoide	34.5	23.3	1.5	Bicapa	Presente	Ausente	
Reportada	Ovino	Elipsoide	33.4	22.6	1.48	Bicapa	n/a	Presente	Honess, 1942
<i>E. hirci</i> Observada	Caprino	Elipsoide- ovoide	20.7	18.2	1.14	Bicapa	Presente	Ausente	
Reportada	Ovino	Elipsoide- ovoide	21.9	19.4	1.11	Bicapa	Presente	n/a	Honess, 1942
<i>E. arloingi</i> Observada	Caprino	Elipsoide- ovoide	28.3	20.1	1.41	Bicapa	Prominente	Ausente	
Reportada	Caprino	Elipsoide- levemente ovoide	28	20	1.4	Bicapa	Presente	Presente	Levine et al., 1962
	Caprino	Elipsoide- ovoide	28	21	1.4	Bicapa	Presente	Presente	Shah and Joshi, 1963

Tabla 3. Características morfológicas de esporoquistes de *Eimeria spp* de cabras en pastoreo comparadas con reportes previos.

		Esporoquiste						
Especie	hospedador	Forma	Altura (µm)	Ancho (µm)	Cuerpo stieda	Residuo	Cachucha micropolar	Referencia
<i>E. christensen</i> Observada	Caprino	Ampliamente elipsoide- ovoide	15.4	8.6	Ausente	Presente	Presente	
Reportada	Ovino	Alargado- ovoide	15.4	7.81	n/a	Presente	n/a	Honess, 1942
<i>E. hirci</i> Observada	Caprino	Levemente ovoide- redondeado	9.2	6.6	Ausente	Presente	Presente	
Reportada	Ovino	Ovoide	9.5	6.4	n/a	n/a	Presente	Honess, 1942
<i>E. arloingi</i> Observada	Caprino	Alargado ovoide	13.8	8.2	Ausente	Presente	Prominente	
Reportada	Caprino	Alargado ovoide	14	8	Ausente	Presente	Presente	Levine et al., 1962
	Caprino	Alargado ovoide	13	8	Ausente	Presente	Presente	Shah and Joshi, 1963

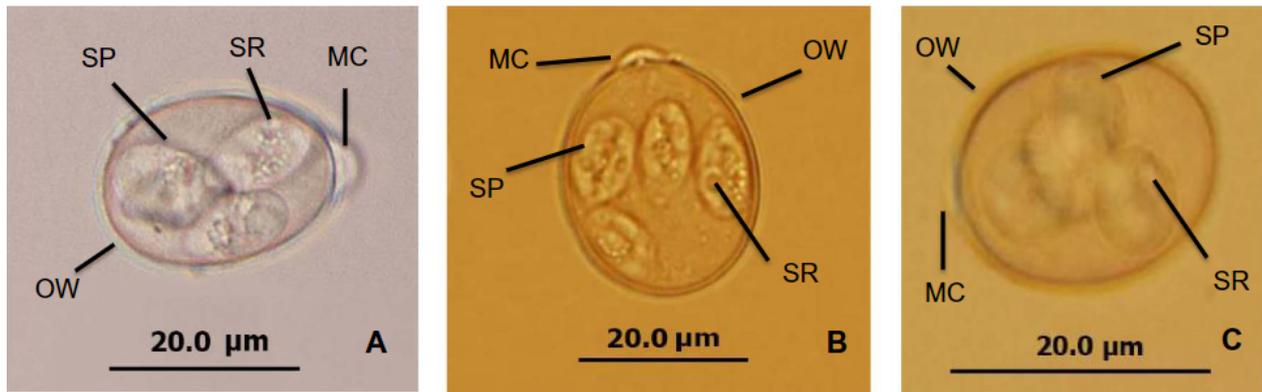


Fig. 8. Microfotografías de ooquistes de *Eimeria* de cabras en pastoreo; *E. arloingi* (A), *E. christenseni* (B) and *E. hirci* (C) mostrando la pared del ooquiste (OW), capuchón micropolar (MC), esporozoitos (SP), y residuos esporoquísticos (SR). (Al- Habsi et al., 2017)

3.2. Diagnóstico molecular.

Como se ha mencionado, el diagnóstico de la coccidiosis se basa principalmente en las observaciones clínicas y de ooquistes en métodos de flotación simple; a pesar de lo anterior, es importante considerar que no solo la presencia de las estructuras parasitarias es definitiva en el diagnóstico, resulta imperativo realizar pruebas de identificación por especie (Bangoura y Bardsley, 2020). Como se ha revisado, la observación morfológica de ooquistes es el único método práctico para identificar especies de *Eimeria* sin embargo, es un método no tan viable tomando en cuenta que la morfología de algunas especies es variable y la distinción de estructuras específicas puede ser confusa. Por lo anterior, la posibilidad de descartar o confirmar la presencia de una especie determinada utilizando las técnicas microscópicas suele ser subjetiva. Además, las técnicas de identificación morfológica han sido descritas por tener una sensibilidad relativamente baja y limitaciones prácticas asociadas con el tiempo, labor y entrenamiento requerido para el manejo y observación en el microscopio (Al- Habsi *et al.*, 2017).

Los ensayos moleculares han probado ser útiles en la identificación de *Eimeria spp.* sobrellevando las limitaciones de los procedimientos tradicionales. La punta de lanza de la identificación molecular es el uso del gen 18S rRNA.

El nucleolo es el lugar donde tiene lugar la transcripción y el procesamiento del RNA ribosómico (rRNA) y del ensamblaje de las pre- subunidades de los ribosomas, el nucleolo es pues la fábrica de producción de los ribosomas. Los ribosomas de las células eucarióticas contienen cuatro diferentes moléculas de rRNA, una de ellas la 18S que se encuentra en la subunidad menor 40S y es un componente estructural fundamental de los ribosomas

citoplasmáticos, por tanto, uno de los componentes básicos de todas las células eucariotas. Los genes que codifican el 18S rRNA se denominan genes 18S rRNA. Los datos de la secuencia de estos genes se utilizan ampliamente en el análisis molecular para reconstruir la historia evolutiva de los organismos, siendo uno de los más utilizados en los estudios filogenéticos y un marcador importante para la PCR en análisis de biodiversidad ambiental. (Meyer *et al.*, 2010)

Como los ribosomas son esenciales para el funcionamiento celular, la secuencia del gen que codifica el 18S rRNA es bastante similar en todos los organismos. Este gen contiene la información necesaria para que las células produzcan moléculas de 18S rRNA. Si el gen mutara fácilmente, la función se vería afectada imposibilitando la formación de los ribosomas, bloqueando la síntesis de proteínas. Aunque el gen se ha mantenido inalterado durante milenios, todavía tiene suficientes variaciones pequeñas para permitir la comparación de secuencias entre diferentes organismos. Al observar estas diferencias, es posible descubrir qué tan estrechamente relacionadas están las especies (Hadziavdic *et al.*, 2014)

Aunque el estudio del gen 18S rRNA ha complementado varios estudios para entender la filogenia de *Eimeria*, la variación genética de la secuencia del gen 18S rRNA suele ser rara, lo que dificulta la identificación de especies basadas en ensayos de PCR. Lo anterior, evidencia que el utilizar el gen 18S rRNA suele ser más conveniente para la detección del protozooario en muestras ambientales. Esto propicia la búsqueda de una técnica que detecte e identifique correctamente las especies del parásito. La profundización en el estudio de los apicomplexa a nivel genómico ha permitido generar nuevos métodos más específicos para la identificación de especies a partir de una técnica de PCR. Uno de los blancos más atractivos es el espaciador transcrito interno 1 (ITS-1 por sus siglas en inglés). Esta región se encuentra separada entre el final 3' del gen 18S rRNA y el final 5' del gen 5.8S rRNA. Debido a la heterogeneidad de la composición y medida de ambas secuencias entre las distintas especies, el ITS-1 es una región prometedora para el diseño de primers específicos por especie. (Kawahara *et al.*, 2010; (Nahavandi *et al.*, 2016)

El procedimiento para la evaluación del ITS-1 se compone de una serie de pasos, iniciando con la recolección de las muestras fecales del hospedador. Se realiza un examen de McMaster para colectar y diluir las muestras con mayor concentración de ooquistes para después realizar un lavado con agua destilada y eliminar restos fecales grandes. A continuación, las muestras lavadas son diluidas con una solución saturada de cloruro de sodio y sometidas a una centrifugación a 3000 rpm por 10 minutos, se recogen los ooquistes de la superficie de la flotación. Los ooquistes resultantes son sujetos a esporulación utilizando una solución de

dicromato de potasio al 2.5% e incubados a temperatura ambiente. Este procedimiento es útil en el aislamiento de ooquistes para la extracción de ADN, pero también para llevar a cabo la identificación morfológica. La caracterización molecular requiere la extracción del ADN de los ooquistes y posteriormente la amplificación de las cadenas y secuenciación. La bibliografía sugiere el siguiente procedimiento: para la extracción de ADN, los ooquistes se lavan tres veces con buffer PBS y se conservan a un volumen de 1 mL. Posteriormente, se colocan trozos de vidrio cortado de 2 a 3 milímetros para que, a través de un vortex, el movimiento y la presencia del vidrio promuevan la destrucción de la pared de los ooquistes. Esto se ratifica a través de una microscopía a X40. Se extrae el ADN con un kit comercial y se procede a su lectura. A continuación, se lleva a cabo la amplificación y secuenciación. Para ello es necesario establecer los primers necesarios para la PCR que son conocidos gracias a reportes previos que corresponden a la secuencia de las especies en cuestión. Se realiza la amplificación de la secuencia del ITS-1 en el termociclador. A continuación, se eluye el amplicón para llevar a cabo la secuenciación y posteriormente identificar la secuencia de nucleótidos relacionada con la base de datos de nucleótidos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). A continuación, estas secuencias son alineadas con las obtenidas para estudiar sus variaciones y determinar así la especie en cuestión, todo a partir de kits especializados en elución, secuenciación y organización de nucleótidos (Kawahara *et al.*, 2010; Verma *et al.*, 2017).

XV. Conclusión.

A través de la presente recopilación bibliográfica, se han resaltado distintos puntos importantes para la discusión de la importancia de los distintos métodos de diagnóstico del género *Eimeria*, parásito relevante en las producciones caprinas y ovinas a nivel mundial.

De acuerdo con la postulación de objetivos, esta recopilación bibliográfica permitió presentar información sobre los métodos actuales más utilizados en el diagnóstico del género, discutiendo la existencia del método morfológico y molecular.

Se describieron las características del género *Eimeria*, un endoparásito protozooario del phylum apicomplexa que causa la enfermedad conocida como coccidiosis, padecimiento importante por sus consecuencias a nivel gastrointestinal y su grave repercusión económica por su prevalencia en unidades de producción.

Así mismo, se dieron a conocer los métodos de diagnósticos más utilizados para evidenciar la presencia de *Eimeria* en rebaños, describiendo detalladamente la flotación de Willis (técnica que permite la separación de estructuras parasitarias del exceso de residuos permitiendo que estructuras de menor densidad floten en una solución de densidad mayor) y la técnica de McMaster (una técnica usada para la demostración y contabilización de estructuras quísticas en muestras fecales). Se profundizó también en la importancia del conocimiento de métodos que evidencien las especies de *Eimeria* involucradas en las infecciones coccídicas siendo que las primeras dos técnicas no son específicas en cuanto a la diversidad de especies involucradas.

Lo anterior permitió que la presente revisión presentara los dos métodos de identificación por especie; el método de identificación morfológica cuya evaluación consiste en la identificación de especies basada en el criterio morfológico de los ooquistes, esencialmente posterior a la esporulación y su observación e interpretación al microscópico, notando variaciones en algunas estructuras clave del protozooario y la identificación molecular, que se fundamenta en la obtención de amplicones a partir de una PCR de un extracto de ADN de ooquistes esporulados de *Eimeria*. Ambas técnicas fueron descritas y se pudo observar que ambas permiten ampliar las posibilidades de distinguir la especie del parásito que se encuentra involucrada en una infección. El conocimiento de las distintas herramientas disponibles para el diagnóstico de este parásito permite una intervención efectiva en los problemas relacionados con la enfermedad en las unidades de producción, dando un beneficio indirecto a los productores ya que el reconocimiento específico de *Eimeria* permite al médico brindar un tratamiento oportuno y un pronóstico favorable.

XVI. Referencias.

1. Al- Habsi, K., Yang, R., Ryan, U., Miller, D. W., y Jacobson, C. (2017). Morphological and molecular characterization of three *Eimeria* species from captured rangeland goats in Western Australia. *Veterinary Parasitology*, 9, 75- 83
2. A, Alonso., y G, Miro. (1997). Epidemiología de las Sarnas en Pequeños Rumiantes. *Produccion-animal.com.ar*. Retrieved May 5, 2023, from https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_ovinos/84-epidemiologia_sarnas.pdf.
3. Álvarez, A. R. (2006). Los protozoos. Características generales y su rol como agentes patógenos. *Ciencia Veterinaria*, 8(1).
4. Andrade-Montemayor, H.M. (2017). Producción de Caprino en México. VIII Foro Nacional del Caprino, (18), 24. <https://www.ces.ncsu.edu/wp-content/uploads/2017/07/Produccio%CC%81n-de-Capri-no-en-Me%CC%81xico.pdf?fwd=no>
5. Arcila, G., Martínez, H. A., y Tórtora, J. (2012). Detección de anticuerpos contra lentivirus de pequeños rumiantes en fetos ovinos y caprinos. *Vet. Mex*, 43(1). <http://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v43n1/v43n1a2.pdf>
6. Bangoura, B., y Bardsley, K. D. (2020). Rumiant Coccidiosis. *Vet Clin Food Anim*, 36, 187- 203. 10.1016/j.cvfa.2019.12.006
7. Barreto de Souza, L. E., Ferreira da Cruz, J., Teixeira Neto, M. R., Albuquerque, G. R., Brandão Melo, A. D., y Tapia Tapia, D. M. (2015). Epidemiology of *Eimeria* infections in sheep raised extensively in a semiarid region of Brazil. *Vet Parasitol*, 24(4), 410- 415. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015070>
8. Benavides, E. (2009, febrero 13). Principales enfermedades que afectan la producción ovina en el trópico. *Spei Domus*, 5(11), 5.

9. Capello, B. P., Arce, A. A., Barbieri, F. A., Del Rio Alvarez, F., y Lozina, L. A. (2020). estudio comparativo entre las técnicas de McMaster modificada INTA y Mini Flotac para el conteo de huevos de nematodes en materia fecal de equinos. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental.*, 7(4), 17- 24. <https://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2020/11/Capello-et-al.pdf>
10. Chartier, C., y Paraud, C. (2012). Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*, 103(1), 84- 92. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448811004366>
11. Cuellar, J. A., y Trujillo, G. (n.d.). Manual práctico sobre las enfermedades parasitarias de las cabras.
12. Da Silva, N. R., y Miller, J. E. (1991). Survey of *Eimeria* spp. oocysts in feces from Louisiana State University ewes. *Vet Parasitol*, 40(1- 2), 147- 50.
13. Dauschies, A., y Najdrowski, M. (2005). Eimeriosis in cattle: current understanding [review]. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 52(10), 417- 27. 0.1016/j.cvfa.2019.12.006
14. Devendra C.(1980). Potential of sheep and goats in less developed countries. *Journal of Animal Science*, 51: 461 -473
15. Dos Santos, N., Tosetti, N., Koreny, L., Waller, R., y Soldatti- Favre, D. (2020). Evolution, composition, assembly, and function of the conoid in Apicomplexa. *Trends in Parasitology*, 36(8). 10.1016
16. Eckert, J., Braun, R., Shirley, M. W., & Coudert, P. (1995). Guidelines on techniques in coccidiosis research. European Commission, Directorate-General for Research and Innovation. Publications Office.
17. FAO. (2009). Statistical Database. Retrieved 11 17, 2021, from <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>

18. Figueroa, A. A., Pineda, S.A., Godínez, J., Vargas, D., y Rodríguez, E. (2018). Parásitos gastrointestinales de ganado bovino y caprino en Quechultenango, Guerrero, México. *Agroproductividad*, 11(6), 97- 104.
19. Fitzgerald, P. R. (1980). The economic impact of coccidiosis in domestic animals. *Adv Vet Sci Comp Med*, 24, 121- 43.
20. Gállego, J. (2007). *Manual de Parasitología. Morología y biología de los parásitos de interés sanitario.* Universitar. https://books.google.com.mx/books?id=XH4yn_OANn4Cydq=apicomplexa+caracter%C3%ADsticasysource=gbs_navlinks_s
21. Garcia, I., Muñoz, B., Aguirre, A., Polo, I., García, A., y Refoyo, P. (2008). Introducción a los protozoos. *Reduca*, 1(1), 1- 6.
22. Gibbons, L., Jacobs, D., Fox, M., y Hansen, J. (n.d.). *The RVC/FAO Guide to Veterinary diagnostic parasitology. Faecal examination of farm animals for helminth parasites.* Royal Veterinary College. Retrieved August 31, 2022, from <https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/index/index.htm>
23. Grajales, H., Moreno, D. C., y Atuesta, J. (2019, Marzo 10). *Guía Técnica de producción Ovina y Caprina:I.Aspectos favorables y desfavorables para la producción Ovina y Caprina.* Retrieved Diciembre 22, 2021, from <https://www.researchgate.net/publication/331641431>
24. Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E. M., y Troedsson, C. (2014, 02). Characterization of the 18S rRNA Gene for Designing Universal Eukaryote Specific Primers. *PLOS ONE*, 9(2). 10.1371.0087624
25. Hernández Z. (1999). *La Caprinocultura en el Marco de la Ganadería Poblana (México): Contribución de la Especie caprina y Sistemas de producción.*

26. Hernández, I., y Mendoza, N. (2002). Determinación in vitro del tiempo de esporulación de las diferentes especies de eimeria en caprinos. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 12(1), 24- 28.
27. Islas Moreno, A., Barrera- Perales, O.T., Aguilar Avila, J., y Muñoz Rogríguez, M. (2020). Análisis financiero y económico en la elaboración y venta de un platillo tradicional: el caso de la barbacoa de ovino en México (1, 16th ed.). *Costos e Agronegocio*.
28. Kawahara, F., Zhang, G., Mingala, C. N., Tamura, Y., Koiwa, M., Onuma, M., y Nunoya, T. (2010). Genetic analysis and development of species-specific PCR assays based on ITS-1 region of rRNA in bovine Eimeria parasites. *Veterinary Parasitol*, 174, 49- 57.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401710004267?via%3Dihub>
29. Laseen, B., y Ostergaard, S. (2012). Estimation of the economical effects of Eimeria infections in Estonian dairy herds using a stochastic model. *Prev Vet Med*, 106(3- 4), 258- 65.
30. López Ruvalcava, O., González Garduño, R., Osorio Arce, M., Aranda Ibañez, A., y Díaz Rivera, P. (2013). Cargas y especies prevalentes de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo destinados al abasto. *Mex. Cienc. Pecu*, 4(2), 223- 234.
31. Mavrot, F., Hertzberg, H., y Torgerson, P. (2010). Haemonchosis in a sheep flock in North Finland. *Acta Vet Scand*. 10.1186/1751-0147-52-S1-S19.
32. Meyer, A., Todt, C., Mikkelsen, N. T., y Lieb, B. (2010). Fast evolving 18S rRNA sequences from Solenogastres (Mollusca) resist standard PCR amplification and give new insights into mollusk substitution rate heterogeneity. *BMC Evolutionary Biology*, 10(70). 1471-2148/10/70

33. Molina, R., Trigo, F., y CUTLIP, R. (1986). Estudio serológico de la neumonía progresiva ovina en México. 17, 269- 273.
<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=UAA.xisymethod=postyformato=2&ycantidad=1&yexpresion=mfn=007635>
34. Mondragón Ancelmo, J., Olmedo Juárez, A., Reyes Guerrero, D., Ramírez Vargas, G., Ariza Román, A., y López Arellano, M. (2019). Detection of gastrointestinal nematode populations resistant to albendazole and ivermectin in sheep. *Animals*. 10.3390/ani9100775
35. Nahavandi, K. H., Mahvi, H. A., Mehdi, M., Keshavarz, H., Rezaei, S., Mirjalali, H., Elikaei, S., y Rezaeian, M. (2016, 4). Molecular Typing of *Eimeria ahsata* and *E. crandallis* Isolated From Slaughterhouse Wastewater. *Jundishapur J Microbiol.*, 9(4). 0.5812/jjm.34140
36. Navone, G., Gamboa, M., Kosubsky, L., Costas, M., Cardozo, M., Sisliauskas, M., y González, M. (2005). Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. *Parasitología Latinoamericana*, 60, 178- 181.
37. Norton, C. C. (1986). *Coccidia* of the domestic goat *Capra hircus*, with notes on *Eimeria ovinoidealis* and *E. bakuensis* (syn. *E. ovina*) from the sheep *Ovis aries*. *Parasitology*, 92(2), 279- 89.
38. Partida de la Peña, J.A., Baraña Varela, D., Jiménez Severiano, H., Ríos Rincón, F.G., y Buendía Rodríguez, G. (2013). Producción de carne ovina. INIFAP/SAGARPA.
39. Reyes- Guerrero, D. E., Olmedo- Juárez, A., y Mendoza- de Gives, P. (2012). Control y prevención de nematodosis en pequeños rumiantes: antecedentes, retos y perspectivas en México. *Rev Mex CiencPecu*, 12(3), 186- 204. 10.22319

40. Rocha Estrada, V. (2016). Análisis de la multired de valor y estrategia de mejora para empresa mexicana de agroturismo. Universidad Autónoma de Chapingo - CIESTAAM.
41. Roesicke, E., y Greuel, E. (1992). The survival ability of salmonella, coccidia oocysts and ascarid eggs in laying hen feces from different housing systems. *Dtsch TierarztlWochenschr*, 99(12), 492- 4.
42. Rubio, M., Noris, G., Martínez, S., y Manning, R. G. (2017). Biología molecular de protozoarios parásitos. *Ciencia*, 68(1).
43. Ryan, K. J., y Ray, G. (2017). Sherris. *Microbiología médica* (6th ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169ysectionid=162978717>
44. Sargison, N.D. (2011). Pharmaceutical control of endoparasitic helminth infections in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27(1), 139- 156.
45. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2016, 09 27). ¿Qué alimentos obtenemos de los caprinos o chivos? Gobierno de México. Retrieved 11 17, 2021, from <https://www.gob.mx/siap/articulos/caprinos-o-chivos>
46. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021, Julio 20). Caprino. Población ganadera. 2011-2020. Retrieved 11 17, 2021, from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/655389/Inventario_2020_caprino.pdf
47. Simões, J., y Gutiérrez, C. (Eds.). (2018). *Sustainable Goat Production in Adverse Environments: Volume I: Welfare, Health and Breeding*. Springer International Publishing. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-71855-2_11#citeas

48. Suárez, V. H., Olaechea, F. V., Rossanigo, C. E., y Romero, J. R. (2007). Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América (70th ed.). INTA. 10.13140/RG.2.1.5061.5280
49. Szwako, A., Ortíz, N., y López, D. (2014). Prevalencia de linfadenitis caseosa (*Corynebacterium Pseudotuberculosis*) en caprinos de establecimientos lecheros del departamento central - Paraguay, año 2012. Compendio de Ciencias Veterinarias, 4(1), 24- 29. <http://scielo.iics.una.py/pdf/ccv/v4n1/v4n1a05.pdf>
50. Trejo, G. (2018). Identificación morfológica y molecular de eimeriaspp. en ovinos de la región sur-oriente del estado de México (Issue México) [Tesis de Maestría]. Amecameca, Estado de México.
51. Vadlejch, J., Petrtýl, M., Zaichenko, I., Čadková, Z., Jankovská, I., Langrová, I., y MoravecReceived, M. (2011). Which McMaster egg counting technique is the most reliable? Parasitol Res, 109, 1387- 1394. 10.1007/s00436-011-2385-5
52. Vázquez, I., Vargas, S., Zaragoza, J. L., Bustamante, À., Calderòn, F., Rojas, J., y Casiano, M. À. (2009). Tipología de explotaciones ovinas en la sierra norte del estado de Puebla. Tec Pecu Mex, 47(4), 357- 369. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/1463>
53. Vázquez-Martínez, Ignacio, Jaramillo-Villanueva, J. Luis, Bustamante-González, Ángel, Vargas-López, Samuel, Calderón-Sánchez, Francisco, Torres-Hernández, Glafiro, & Pittroff, Wolfgang. (2018). Estructura y tipología de las unidades de producción ovinas en el centro de México. Agricultura, sociedad y desarrollo, 15(1), 85-97. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-5472201800100085&lng=es&tlng=es.
54. Verma, R., Sharma, D. K., Gururaj, K., Paul, S., Banerjee, P.S., y Tiwari, J. (2017). Molecular epidemiology and point mutations in ITS1 and 18S rDNA genes of Eimeria

ninakohlyakimovae and E. christenseni isolated from Indian goats. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 9. www.elsevier.com/locate/vprsr

55. Williams, G., y Anderson, D. (2020). The Latin American Livestock Industry: Growth and Challenges (34th ed., Vol. 4). Choices. https://www.researchgate.net/publication/351075692_Tendencias_y_modelos_de_negocio_en_la_ovinocultura_mexicana
56. Wood, I., Amaral, N., Bairden, K., Duncan, J., Kassai, T., Malone, J., Pankavich, J., Reinecke, R., Slocombe, O., Taylor, S., y Vercruyse, J. (1995). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). Vet Parasitol, 58, 181- 213.