UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

P R E S E N T A:

BIÓL. JANELLY JIMENEZ RUIZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Fernando Iván Flores Pérez

CODIRECTORA DE TESIS:

Dra. Claudia Hallal Calleros

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Cuernavaca, Morelos, abril 2025

INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO

Tesis realizada por **Janelly Jimenez Ruiz** bajo la dirección del comité revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el título de:

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

COMITÉ REVISOR

Director de tesis: _____

Dr. Fernando Iván Flores Pérez

Codirectora de tesis: _____

Dra. Claudia Hallal Calleros

Revisor: _____

Dr. Virginio Aguirre Flores

Revisor: _____

Dr. Guadalupe Peña Chora

Revisor: _____

Dr. Kurt Hoffman

Revisor: _____

Dr. German Bernal Fernández

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias por su recibimiento y acogida.

A mis directores de tesis el Dr. Fernando Iván y la Dra. Claudia por darme la oportunidad, la confianza y la dedicación de trabajar a su lado, al compartirme su amplio conocimiento, experiencia y sobre todo el gran apoyo recibido durante mi proceso académico en posgrado, infinitas gracias hoy y siempre.

Agradecimiento al Dr. Emmanuel Dunstand Guzmán por el asesoramiento y apoyo del segundo experimento de este trabajo, por sus aportaciones y revisiones.

Al comité revisor: Dr. Virginio Aguirre Flores, Dr. Kurt Hoffman, Dr. Guadalupe Peña Chora, Dr. David Arias Hernández y el Dr. German Bernal Fernández por la aportación de sus óptimos comentarios y sugerencias en el desarrollo de este proyecto, muchas gracias. También a la Dra. Mariana Pedernera y el Dr. Reyes Vázquez Rosales por sus comentarios y sugerencias en cada seminario.

Mis compañeras y amigas Guadalupe Arjona, María Fernanda González y Fernanda Alarcón por sus enseñanzas, consejos y su sincera amistad, a Juan Carlos Palma por su apoyo como servicio social, muchas gracias.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por la beca 1077582 asignada para el desarrollo de mis estudios de Maestría.

DEDICATORIA

Emi, Nahú y Raúl

Las personas que están siempre a mi lado,

compartiendo mis alegrías y mis penas, los amo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS I

ÍNDICE DE CUADROS II

ANEXOS III

RESUMEN 1

ABSTRACT 2

EXPERIMENTO 1: Influencia de la ovariectomía sobre la infección por el ácaro *Psoroptes cuniculi* en conejas (*Oryctolagus cuniculus*)

1. INTRODUCCIÓN 3

2. JUSTIFICACIÓN 7

3. HIPÓTESIS 7

4. OBJETIVO GENERAL 7

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 7

6. MATERIALES Y MÉTODOS 9

7. RESULTADOS 14

8. DISCUSIÓN 31

9. CONCLUSIÓN 35

EXPERIMENTO 2: Efecto anticoccidiano del extracto acuoso de *Pleurotus djamor* en conejos (*Oryctolagus cuniculus*)

10. INTRODUCCIÓN 36

11. JUSTIFICACIÓN 41

12. HIPÓTESIS 41

13. OBJETIVO GENERAL 41

14. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 41

15. MATERIALES Y MÉTODOS 42

16. RESULTADOS 45

17. DISCUSIÓN 52

18. CONCLUSIÓN 56

19. BIBLIOGRAFÍA 57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de grados de infección obtenido mediante evaluación cualitativa en conejas intactas u ovariectomizadas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 7 (a), 14 (b), 21 (c), 28 (d), 35 (e), 42 (f), 49 (g) y 56 (h) días post-infección; media±EE; Prueba Exacta de Fisher 15

Figura 2. Diferentes categorías de infección evaluadas cualitativamente en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 63 post-infección (a), media±EE; (***P<0.0001), Prueba Exacta de Fisher. Evaluación cualitativa del grado de infección a través del tiempo durante 63 días post-infección (b), media±EE, (***P<0.0001), ANOVA de medidas repetidas. Imagen representativas del área de la lesión causada por *Psoroptes cuniculi* en conejas ovariectomizadas (c) y conejas intactas (d) a los 63 días post infección 17

Figura 3. Evaluación cuantitativa del área de la lesión en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 63 post-infección (a), media±EE; Prueba t de Student; (**P<0.009). Imágenes representativas del área de la lesión causada por *Psoroptes cuniculi* en conejas ovariectomizadas (b) o conejas intactas (c) 18

Figura 4. Conducta locomotora total (a) Prueba t de Student; (P>0.52): y a través del tiempo (b) ANOVA, de medidas repetidas (*P<0.03), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* durante 63 días post-infección; media±EE 19

Figura 5. Conducta de frotamiento del mentón total (a), Prueba t de Student; (P>0.58), y a través del tiempo (b), ANOVA de medidas repetidas (***P<0.0001), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* durante 63 días post-infección; media±EE 20

Figura 6. Conducta exploratoria total (a), Prueba t de Student; (**P<0.0041), y a través del tiempo (b) ANOVA de medidas repetidas (**P<0.0035), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post- infección; media± EE 21

Figura 7. Conducta de acicalamiento total (a), Prueba t de Student; (P>0.96), y a través del

tiempo (b), ANOVA de múltiples comparaciones, (**P<0.004), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE 22

Figura 8. Micciones totales (a) Prueba t de Student; (*P<0.01), y a través del tiempo, (b) ANOVA de medidas repetidas, (**P<0.005. *P<0.01, *P<0.01), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE 23

Figura 9. Defecaciones totales (a), Prueba t de Student; (P>0.31), y a través del tiempo (b) ANOVA de medidas repetidas, (P>0.17) en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE 24

Figura 10. Estradiol. Niveles de estradiol, ANOVA de medidas repetidas, (**P<0.005; *P<0.03), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 0 y 63 post-infección; media±EE 25

Figura 11. Peso corporal total en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección, (P>0.29), Prueba de t-Student; media±EE 28

Figura 12. Peso total de las glándulas submandibulares (a), (P>0.69), glándula submandibular izquierda (b), (P>0.66), y glándula submandibular derecha (P>0.84) al día 63 post-infección; Prueba de t-Student, media± EE 29

Figura 13. Peso del hígado (a) (*P<0.03), y bazo (b) (P>0.65) de conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 63 post-infección; Prueba de t-Student, media±EE 30

Figura 14. (a) Análisis del total de ooquistes en conejos infectados con Eimeria spp al post-tratamiento; Prueba de Kruskal-Wallis, (***P<0.0001) control vs *P. djamo*r; media± EE; (***P<0.0001) control vs toltrazuril, media±EE; (b) Análisis a través del tiempo; (**P<0.008, P=<0.16, ****P<0.0001), ANOVA de medidas repetidas; media±EE 48

Figura 15. (a) Análisis del peso corporal en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0.38); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE; (b) Análisis del peso corporal a través del tiempo en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0. 41, P>0.68, P>0.14); ANOVA de medidas repetidas; media±EE 49

Figura 16. (a) Glucosa sanguínea en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0.72), ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE; (b) Glucosa sanguínea a través del tiempo en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0.99, P>0.99, P>0.99,); ANOVA de medidas repetidas;media±EE 50

Figura 17. (a) Análisis de temperatura corporal en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0.51); ANOVA de múltiples comparaciones; (b) Análisis de temperatura a través del tiempo en conejos infectados con Eimeria spp; (P>0.99, P>0.99, P>0.99); ANOVA de medidas repetidas 51

Figura 18. a) Análisis del peso de hígado en conejos infectados con Eimeria spp al postratamiento; ANOVA de múltiples comparaciones ;media±EE; (P>0.75); (b) Análisis del peso de los intestinos en conejos infectados con Eimeria spp al postratamiento; (P>0.77); ANOVA de medidas repetidas; media±EE 52

Figura 19. Lesiones hepáticas macroscópicas de conejos infectados con Eimeria spp al postratamiento; (**P<0.003); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE. Imagen representativa de lesiones (a) grupo control, (b) grupo P. djamor (c) grupo toltrazuril 53

Figura 20. a) Lesiones intestinales macroscópicas en conejos infectados con Eimeria spp al día 7 postratamiento; (*P<0.03); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE. Imagen representativa de lesiones en intestino (b) grupo control, (c) grupo *P. djamor* (d) grupo toltrazuril 54

Figura 21. Imágenes representativas de tres conejas del grupo intactas infectadas con cisticercos, al día 63 de la necropsia 75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Correlación de los niveles de estradiol día 0 y 63 y conductas individuales en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi*. Prueba de Pearson 26

Cuadro 2. Correlación de los niveles de estradiol día 0 y 63, grado de infección en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi*. Prueba de Pearson 27

ANEXOS

Anexo 1. Hallazgos importantes 74

Anexo 2. Solución saturada de NaCl 76

Anexo 2. Técnica de flotación 76

Anexo 2. Método del hemocitómetro 76

Anexo 2. Infección experimental 77

Anexo 3. Memorias de presentación en congreso “INFLUENCIA DE LAS HORMONAS OVÁRICAS SOBRE LA INFECCIÓN POR *Psoroptes cuniculi* EN CONEJAS DOMÉSTICAS” 78

Anexo 4. Memoria de presentación en congreso “INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *EIMERIA* SPP EN CONEJOS ADULTOS DE LAS RAZAS NUEVA ZELANDA, CALIFORNIA Y CHINCHILLA 82

RESUMEN

La crianza de conejos o cunicultura es una de las actividades primarias que forman parte de la ganadería, generando un conjunto de bienes de origen animal para la obtención de productos de uso alimentario o industrial. En México se ha impulsado esta actividad desarrollándose principalmente en estados como Puebla, Tlaxcala, Morelos, Michoacán, Guanajuato, Jalisco y Estado de México como productores de conejo, teniendo la producción de carne como primer propósito (SADER, 2016), en donde emplean principalmente razas Nueva Zelanda, California, Chinchilla, y cruzas entre ellas (Macías-Fonseca *et al*., 2021).

La cunicultura comúnmente es implementada como una actividad de productividad familiar a pequeña escala o de traspatio, ya que ofrece beneficios y ventajas tales como el práctico manejo de la especie, el breve tiempo para la recuperación de inversiones, la reducción del espacio necesario y la simpleza de las instalaciones, características que hacen de esta actividad sea una alternativa para abatir índices de pobreza y para la generación de empleos en zonas rurales y suburbios en el país (SADER, 2015). Además de los usos alimenticios y comerciales, el conejo es utilizado como animal de compañía y modelo animal en investigación biomédica facilitando el conocimiento de la fisiología y la homeostasis, así como la prevención, diagnóstico y tratamiento de patologías (Moctezuma & Linares, 2020). El estudio de esta especie permite comprender el desarrollo y propagación de enfermedades que puedan provocar un desequilibrio en la salud y bienestar, causadas por múltiples factores de tipo nutricionales, ambientales o genéticos, así como también enfermedades internas o externas causadas por agentes parásitos como bacterias, protozoarios, virus, helmintos, hongos y ácaros, los cuales pueden reducir su productividad y pérdidas económicas (Ghany, 2021), ayudando a proponer alternativas naturales para su mejoramiento.

ABSTRACT

Rabbit breeding or rabbit farming is one of the primary activities that are part of animal husbandry, generating a set of goods of animal origin to obtain products for food or industrial use. In Mexico, this activity has been promoted, developing mainly in states such as Puebla, Tlaxcala, Morelos, Michoacán, Guanajuato, Jalisco and Estado de México as rabbit producers, with meat production as their primary purpose (SADER, 2016), where they mainly use New Zealand, California, Chinchilla breeds, and crosses between them (Macías-Fonseca *et al.*, 2021).

Rabbit farming is commonly implemented as a small-scale family or backyard productivity activity, since it offers benefits and advantages such as the practical management of the species, the short time for investment recovery, the reduction of the necessary space and the simplicity of the facilities, characteristics that make this activity an alternative to reduce poverty rates and generate employment in rural areas and suburbs in the country (SADER, 2015). In addition to food and commercial uses, the rabbit is used as a companion animal and animal model in biomedical research, facilitating knowledge of physiology and homeostasis, as well as the prevention, diagnosis and treatment of pathologies (Moctezuma & Linares, 2020). The study of this species allows understanding the development and spread of diseases that can cause an imbalance in health and welfare, caused by multiple factors of nutritional, environmental or genetic type, as well as internal or external diseases caused by parasitic agents such as bacteria, protozoa, viruses, helminths, fungi and mites, which can reduce their productivity and economic losses, (Ghany, 2021) helping to propose natural alternatives for their improvement.

EXPERIMENTO 1

Influencia de la ovariectomía sobre la infección por el ácaro *Psoroptes cuniculi* en conejas *(Oryctolagus cuniculus*)

La fisiología del conejo es de suma importancia, pues de eso depende su capacidad reproductiva. Las conejas son mamíferos con características reproductivas diferentes a otras especies, ya que presentan una ovulación inducida, lo que significa que ovulan solo en respuesta de un estímulo físico u hormonal (Flores-Pérez *et al.*, 2005). La reproducción es un proceso que está regulado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario el cual regula la actividad hormonal en la edad reproductiva. En el hipotálamo se sintetizan, producen y liberan hormonas gonadotropinas (GnRH) de forma pulsátil, que estimulan a la hipófisis (adenohipófisis) para que libere la hormona folículo estimulante (FSH) que favorece el desarrollo folicular aumentando los niveles hormonales de estrógenos, responsables del comportamiento y la receptividad sexual de la hembra. La hormona luteinizante (LH) desencadena la ruptura de los folículos maduros, liberando óvulos en el proceso llamado ovulación; este proceso a su vez llevará a la formación del cuerpo lúteo, productor de progesterona (Pacheco, 2010). En la coneja, el aumento de progesterona modifica drásticamente los comportamientos de lordosis y de frotamiento del mentón (chinning) (González-Mariscal *et al*.1994) y es necesaria para el mantenimiento de la gestación, en cambio la atresia folicular en un fenómeno que consiste en la pérdida o eliminación de la mayoría de los ovocitos antes de llegar a la ovulación, se encuentran factores reguladores locales como hormonas esteroides sexuales, factores de crecimiento, citocinas, FSH Y LH (Asselin *et al.,* 2000).

Las hormonas ováricas no solo tienen una importancia significativa en el ciclo reproductivo y el comportamiento sexual en las hembras, también están relacionados con una variedad de funciones en el sistema nervioso central como el aprendizaje, memoria, habilidades motoras, regulación de la temperatura y estados de ánimo (Nilsson & Gustasen,

2002), ya que participan en procesos de señalización y diferenciación a través de receptores estrogénicos alfa y beta (Kao *et al*., 2018), también modifican comportamientos que alteran la susceptibilidad o la resistencia a infecciones.

El sistema endócrino interactúa a su vez con los sistemas nerviosos e inmunológico a través de interacciones bioquímicas, en donde las hormonas, neuropéptidos, citoquinas y quimiocinas modulan la información de manera bidireccional entre los distintos sistemas formando una vasta red, que, al compartir ligandos y receptores comunes, el organismo utiliza varias vías para regular una misma función (Hernández-Bello *et al*., 2010). Por otra parte, las evidencias nos indican que las hormonas sexuales tienen una influencia en el desarrollo y en el curso de las infecciones parasitarias (Romano *et al.,* 2015). Específicamente, las hormonas ováricas pueden tener una función protectora y moduladora ante algunas infecciones parasitarias; sin embargo, la susceptibilidad de una infección parasitaria en un ambiente estrogénico puede variar dependiendo de la biología del parásito y la del hospedero, y de esto puede depender el desarrollo del parásito y la conducta que pueda modificarse en el hospedero.

Por ejemplo, en la leishmaniasis por *Leishmania mexicana* hay un aumento de la transcripción del ARNm de IFNg dependiente de estrógenos (Roberts *et a*l., 1996); por otra parte, en *Mus musculus* infectados con *Giardia muris* las hembras tienen tasas de infección más bajas y mayor producción de anticuerpos que los machos, lo que sugiere una ventaja funcional para la inmunidad humoral elevada en hembras. Esta ventaja se atribuyó de manera teórica a las hormonas sexuales, por lo que se propuso como modelo fisiológico la extirpación quirúrgica de los ovarios (ovariectomía), con el fin de observar cambios y alteraciones en el comportamiento de un individuo, encontrando que la eliminación de las hormonas ováricas mediante la ovariectomía puede estimular la respuesta inmune mediada por células, así como alterar o deprimir la estructura de los tejidos inmunológicos relacionados (Grossman,1984).

En los últimos años se han reportado estudios en donde el conejo como especie doméstica, puede albergar parásitos que modifican las conductas naturales y reproductivas, desarrollando enfermedades clínicas. Está demostrado que *Encephalitozoon cuniculi* provoca una enfermedad grave en el conejo doméstico provocando una serie de alteraciones histopatológicas (Künzel & Joachim, 2010), en un trabajo de investigación sobre la infección por *T. pisiformis* en conejos obesos disminuyó el peso corporal, el peso en hígado fue un 20% mayor, demostrando que *T. pisiformis* altera las características metabólicas en conejos, lo que puede impactar en la producción y el bienestar de los animales (Arias-Hernández *et al.,* 2010).

Otro ejemplo de ello es la parasitosis causada por *T. pisiformis* que altera el comportamiento disminuyendo la actividad locomotora, la conducta exploratoria y el acicalamiento. También se altera la prolificidad en conejas infectadas al reducir la cantidad de gazapos, y se encuentran hembras infectadas con mayor frecuencia que machos, concluyendo que esta parasitosis está asociada al sexo. También, las hembras presentan mayor carga parasitaria cuando están gestantes, por lo que la parasitosis se relaciona con la etapa fisiológica de las hembras dependiente del ambiente hormonal, y reportando también el hallazgo de metacéstodos en la región ovárica (Domínguez-Roldan, 2019).

En conejos infectados experimentalmente con *Psoroptes cuniculi* se observó una disminución en el comportamiento de la actividad locomotora y frotamiento del mentón, y la infestación crónica se asoció a una disminución en la ingesta de alimentos, pérdida de peso y aumento en los niveles de cortisol sérico (Hallal-Calleros *et al.*, 2019). En otro estudio con conejos adultos machos, la infección con *P. cuniculi* induce un impacto en las conductas individual y sexual en animales sumisos presentando mayor susceptibilidad al desarrollo de la sarna psoróptica que los animales dominantes (tesis de Maestría Gonzáles-Chávez, 2021).

Psoroptes cuniculi es un ácaro ectoparásito común en granjas cunícolas, causando una infección dermatológica manifestada en el pabellón auricular de los conejos, la cual provoca problemas en el equilibrio del animal produciendo daños graves tanto a nivel de salud, bienestar y rendimiento en la producción. Cuando los ácaros penetran en el pabellón auricular, se multiplican ejerciendo una acción traumática, alimentándose de células de descamación, linfa, y líquido intersticial, lo que origina una reacción inflamatoria de las vías auditivas con infiltraciones serosas celulares, producción de nódulos, vesículas y costras estratificadas de color parduzco, así como masas de secreción amarillenta, grasosas y fétidas, con complicaciones por infecciones bacterianas secundarias. Algunos signos clínicos son prurito, contracciones de cabeza, rascado frecuente, y en la oreja se observan lesiones y costras que van avanzando del interior del pabellón auricular hacia el exterior, llegando a establecerse en toda la oreja (Respaldiza, 1995).

Hasta el momento no se han encontrado estudios que reporten la influencia de las hormonas ováricas sobre la infección de *P. cuniculi* en conejas domésticas, por lo que este estudio se enfocó en evaluar el efecto de la ovariectomía sobre la susceptibilidad a la infección por *Psoroptes cuniculi* (grado de infección) y sobre las alteraciones conductuales en conejas.

JUSTIFICACIÓN

Considerando la información reportada en diversos estudios de investigación, se ha demostrado que la infección por el ácaro *Psoroptes cuniculi* modifica las conductas en los conejos. Se propone investigar si la presencia o ausencia de hormonas ováricas influye en la susceptibilidad a la infección causada por el ácaro *Psoroptes cuniculi* en conejas intactas u ovariectomizadas, y si éstas influyen en las conductas individuales (locomotora, exploratoria, frotamiento del mentón, micción, defecación y acicalamiento).

HIPÓTESIS

Las hormonas ováricas influyen en el grado de infección por *Psoroptes cuniculi* y en las conductas individuales (locomotora, exploratoria, micción, defecación y acicalamiento) en conejas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de las hormonas ováricas sobre la susceptibilidad a la infección por *Psoroptes cuniculi* (grado de infección) y las alteraciones conductuales en conejas domésticas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar el grado de una infección experimental por *Psoroptes cuniculi* en conejas ovariectomizadas y en conejas intactas.
- Evaluar las conductas individuales de locomoción, exploratoria, micción, defecación y acicalamiento en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* mediante la prueba de campo abierto en conejas ovariectomizadas e intactas infectadas.

- Cuantificar los niveles de estradiol sérico en conejas ovariectomizadas e intactas infectadas.
- Evaluar la relación entre el grado de infección y el grado de afectación en las conductas individuales.
- Evaluar la relación entre los niveles de estradiol y el grado de infección.
- Analizar el peso corporal y peso de órganos (glándulas de chinning, hígado y bazo) en conejas ovariectomizadas e intactas infectadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones éticas

Los animales utilizados fueron tratados bajo los criterios de la NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”, legislación vigente en materia de bienestar y experimentación, y en concordancia con las normas de bienestar animal internacionales (Percie du Sert *et al.,* 2020). Fue evaluado y aprobado por el Comité Interno de Bioética en Animales de Experimentación (CIBIOAE), con número de folio 2023-12.

Grupos experimentales

Se utilizaron 16 conejas adultas, cruzas de raza Nueva Zelanda, Mariposa y Rex. Ocho conejas ovariectomizadas y ocho conejas intactas con un peso inicial de 3.2±0.08 kg, que permanecieron en condiciones convencionales de granja, alojadas en jaulas individuales de 60X90X40 cm, alimentadas con 180 g de una dieta comercial balanceada Malta-Cleyton® (15 % proteína, 2 % grasa, 12 % humedad, 10 % ceniza, 17 % fibra, 44 % de ELN) y agua a libre demanda mediante bebederos automáticos.

Las conejas fueron asignadas aleatoriamente en dos grupos:

Grupo 1 (n=8): conejas ovariectomizadas e infectadas

Grupo 2 (n=8): conejas intactas e infectadas

Ovariectomías (Ovx)

Las Ovx de las conejas del grupo correspondiente se llevaron a cabo por veterinarios expertos. Las ocho conejas se mantuvieron en ayuno de 12 horas previas a la cirugía. Se suministraron xilacina/ketamina (5/35 mg/kg) vía intramuscular, y se monitorearon la frecuencia cardiaca y respiratoria cada 5 min desde la aplicación de los anestésicos, hasta concluir el procedimiento. Se posicionó al animal en decúbito dorsal para iniciar el procedimiento de lavado con jabón neutro, rasurado y esterilización de la zona abdominal con cloruro de yodo. Después se realizó una incisión caudal de 5 cm en la línea media

localizando los ovarios, se efectuó la hemostasis utilizando una pinza quirúrgica, y la posterior extracción de los ovarios. Se cerró el peritoneo, la capa muscular y por último la piel. Durante tres días postoperatorios se aplicaron Enrofloxacina y Tramadol (0.5 mg/kg y 0.6 mg/kg IM) vía intramuscular.

Infección con ácaros *P. cuniculi*

Los ácaros *P. cuniculi* se obtuvieron de conejos naturalmente infectados con previa sedación vía intramuscular con xilacina/ketamina (5 mg/kg y 35 mg/kg. Se realizó mediante la obtención de costras del pabellón y canal auditivo, colocando las costras con ácaros en tubos de 50 ml, manteniéndose a una temperatura de 28±2° C durante 15 min para estimular la migración espontánea de los ácaros fuera de las costras. Posteriormente los ácaros fueron identificados usando un microscopio de acuerdo con las características morfológicas de su especie (Bates, 1999).

Para la infestación se colocaron 300 ácaros en un algodón, el algodón se introdujo en el canal auditivo de la oreja izquierda, la cual posteriormente se envolvió con una gasa estéril y cinta adhesiva médica enrollando toda la oreja para evitar la caída del algodón, el cual se retiró a las 24 horas (Hallal-Calleros *et al.,* 2013 con modificaciones).

Evaluación cualitativa del grado de infección

El grado de infección sé determinó por la presencia de costras y ácaros, observando el pabellón y el conducto auditivo con ayuda de un otoscopio.

Se establecieron los siguientes criterios cualitativos:

Ausencia de costras y ácaros= 0, irritación en el conducto auditivo sin ácaros observados= 0.5, costras o ácaros en el canal interno del oído= 1, costras y ácaros en menos de ¼ del canal externo del oído= 2, costras y ácaros en 1/4 del área del pabellón= 3, costras y ácaros en 1/2 del área del pabellón= 4, costras en ¾ de área del pabellón y presencia de ácaros= 5, pabellón repleto de costras y ácaros presentes= 6. Las puntuaciones de 1-2 se consideraron bajas, 3-4 medias y 5-6 altas. La evaluación se realizó cada semana durante

los 63 días del experimento (Dunstand- Guzmán *et al.,* 2017).

Prueba de campo abierto

Las conductas se evaluaron mediante la prueba de campo abierto, que consistió en una arena de 1.20x1.20 m dividida en 9 cuadrantes iguales, rodeados por rejillas metálicas de 70 cm de alto. En esta arena se colocaron tres ladrillos en el cuadrante superior izquierdo y se observó a cada coneja durante 7 minutos. Esta prueba se llevó a cabo tres veces por semana de 9 a 12 de la mañana, durante 63 días con el siguiente etograma: actividad locomotora; que se consideró como el número de veces que la coneja pasó ambas patas delanteras de un cuadrante a otro; la actividad exploratoria fue el número de veces que el conejo se levantó en el tren posterior; frotamiento del mentón (chinning) fue el número de veces que el conejo frotó el mentón en alguno de los ladrillos; micción y defecación, fue el número de veces que el conejo orinó o defecó sobre cualquier cuadrante; acicalamiento que fue el número de veces que el conejo limpiaba cualquier parte de su cuerpo (Hallal-Calleros *et al.*, 2013).

Necropsia

El día 63 post-infección se realizó el sacrificio humanitario de los dos grupos de conejas por personal capacitado y experimentado, mediante una dosis letal de pentobarbital sódico por vía intracardiaca (100 mg/kg), previa anestesia con xilacina/ketamina (5 mg/ kg y 35 mg/kg) de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

Evaluación cuantitativa del grado de infección

Esté procedimiento se realizó posterior al sacrificio. Se retiró la oreja izquierda de cada coneja, se extendió para determinar el área lesionada del pabellón auricular con ayuda de una película de acetato transparente (15 x 8 cm) marcada con una cuadrícula de 1 cm^2 (Dunstand-Guzmán *et al*., 2017, con modificaciones).

Organometría

Posterior al sacrificio, cada coneja se colocó en decúbito dorsal, cortando la piel a lo largo de la línea media desde la unión de la mandíbula hasta el recto y levantando la piel con pinzas quirúrgicas, se localizaron los órganos hígado, bazo y glándulas submandibulares izquierda y derecha (Morales–Briceño *et al.,* 2018), se disectaron y se pesaron con una balanza analítica (Mejía *et al.,* 2015).

Estradiol sérico

Para la determinación de estradiol sérico al inicio del experimento, se indujo la sincronización de ambos grupos. Dos semanas después de las Ovx, a ambos grupos de conejas (intactas y ovariectomizadas) se les administró 1 mg de propionato de estradiol (FORESTRO® PARFARM) por vía intramuscular durante 5 días (Hudson, 1990). Se obtuvo una muestra sanguínea de cada coneja por punción cardiaca, se separó el suero mediante centrifugación a 3,000 rpm por 15 minutos y se conservó a -20° C hasta su análisis. Para la obtención de la sangre, las conejas fueron previamente anestesiadas, suministrado por vía intramuscular xilacina/ketamina (5 mg/kg y 35 mg/kg). Se utilizaron jeringas con agujas largas de 5 ml. Se inició introduciendo la jeringa en el esternón del animal, hasta llegar a las vibraciones del corazón, aspirando el flujo masivo de sangre.

También, al final del experimento, inmediatamente después del sacrificio, se obtuvo una muestra de sangre de cada coneja (día 63 post infección), el suero se recolectó y se conservó a -20° C para su análisis.

Para determinar las concentraciones séricas de estradiol se utilizó un kit comercial de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA), Alinity i de Abott, y el analizador ARCHITECT i1000SR.

Análisis estadístico

Para las diferencias entre grupos con distribución normal, se realizó un ANOVA. Cuando los grupos no siguieron una distribución normal, se efectuó un análisis Mann-Whitney. Para las

variables medidas a través del tiempo, se usó una prueba ANOVA de medidas repetidas. Para el análisis de todas las variables evaluadas se utilizó el programa Graphpad Prism 8.0.1, considerando valores significativos cuando $P<0.05$ (Bate & Clark, 2014).

RESULTADOS

Evaluación cualitativa de las lesiones causadas por la infección experimental con *Psoroptes cuniculi* durante 63 días

Al día 7 posterior a la infección con el ácaro *Psoroptes cuniculi*, ambos grupos mostraron dos categorías; ausente: en el grupo intactas presentaron el 40% (2/5) y las Ovx 50% (4/8), sin diferencia entre ambos grupos. En la categoría baja, el grupo intactas 60% (3/5) y el grupo de las Ovx 50% (4/8), no se obtuvo significancia estadística entre los dos grupos (P >0.20) (Figura 1a). Al día 14 post infección el 20% del grupo intactas presentó la categoría ausente (1/5) y el grupo de las Ovx 13% (1/8), no presentaron diferencia significativa entre ambos grupos, sin embargo, en la categoría baja, el grupo intactas presentó 80% (4/5) y el grupo Ovx mostró un 87% (7/8) (P>0.17) (Figura 1b). El día 21, el 80% del grupo de conejas intactas presentó categoría baja (4/5) y el grupo de Ovx el 100% (8/8) (***P<0.0001), en la categoría media, el grupo de intactas mostró el 20% (1/5) versus el grupo Ovx (0/8) (Fig. 1c). Al día 28 post infección el 60% de las conejas del grupo intactas se observó categoría baja (3/5) con el 13% en el grupo de Ovx (1/8), mientras que, en la categoría media, el grupo intactas presentó 40% (2/5) en comparación al grupo Ovx con el 87% (7/8) presentando diferencias significativas asociadas (***P<0.0001, Fig. 1d). Al día 35, el 60% del grupo intactas presento categoría baja (3/5) y el grupo Ovx 63% (5/8), en la categoría media el grupo de intactas mostró el 40% (2/5) y el grupo Ovx el 37% (3/8), sin diferencia entre los grupos (P>0.77, Fig. 1e).

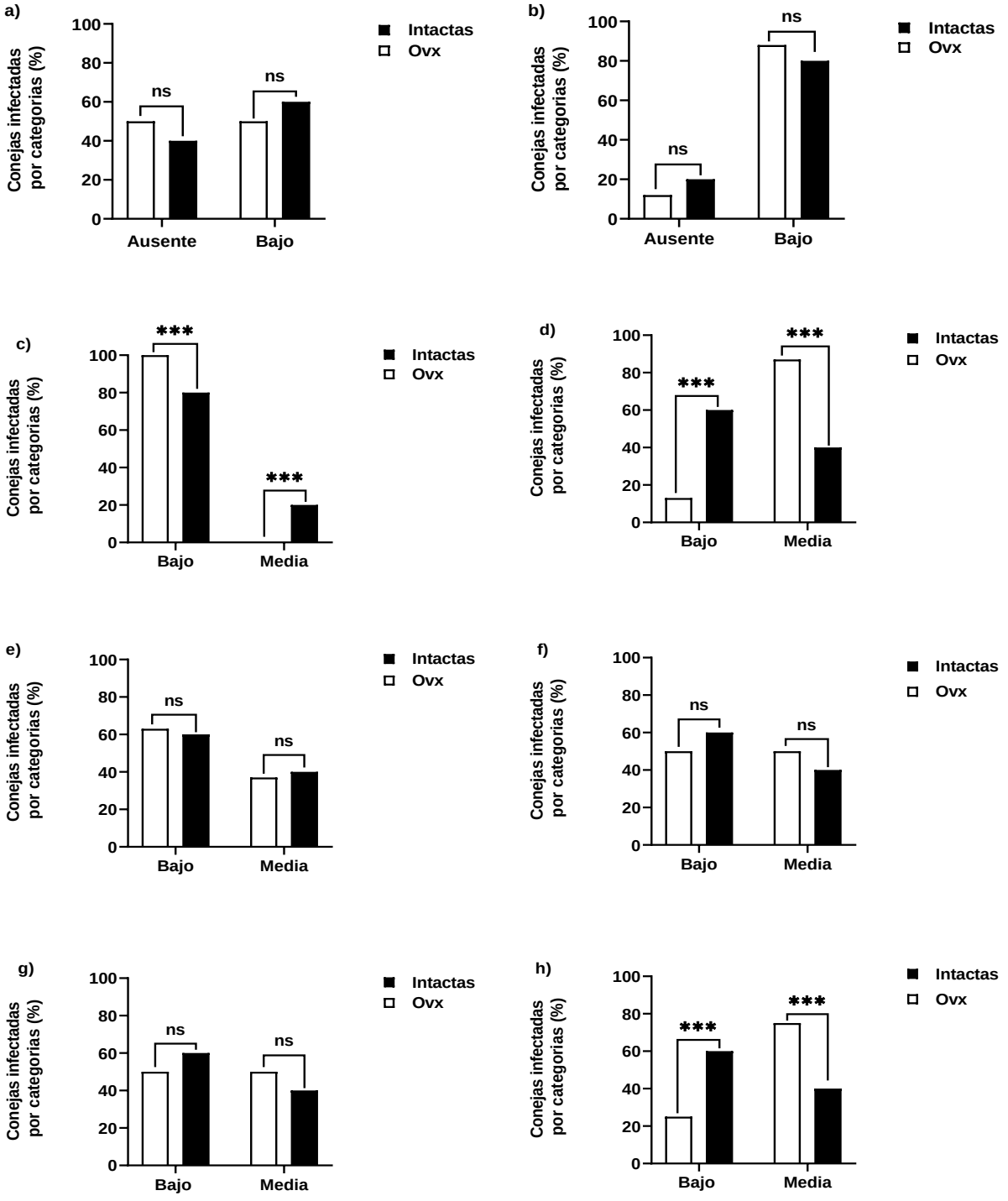


Figura 1. Porcentaje de grados de infección obtenido mediante evaluación cualitativa en conejas intactas u ovariectomizadas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 7 (a), 14 (b), 21 (c), 28 (d), 35 (e), 42 (f), 49 (g) y 56 (h) días post-infección; media±EE; Prueba exacta de Fisher.

El día 42, un 60% de las conejas intactas presentaron categoría baja (3/5) y un 50% en el grupo Ovx (4/8), en la categoría media el grupo intactas mostró un 40% (2/5) en comparación con un 50% (4/8) del grupo Ovx, se determinó que las categorías no presentaron asociación ($P>0.20$, Fig. 1f). En el día 49, el resultado fue similar al día 42 en ambos grupos de conejas ($P>0.20$, Fig. 1g). Al día 56 se observaron cambios significativos en la categoría baja; en el grupo de conejas intactas mostró un 60% (3/5) versus el grupo Ovx con 25% (2/8); y en la categoría media, el grupo de intactas presentó 40% (2/5) y el grupo Ovx 75% (6/8) (***$P<0.0001$, Fig. 1h). En el día 63, en la categoría bajo, el grupo de conejas intactas presentó diferencias significativas con el 60% (3/5) en comparación con el grupo de Ovx 12% (1/8), mientras que en el categoría medio el grupo de intactas presentó una disminución en la categoría con el 40% (2/5) versus el grupo Ovx 88% (7/8) (***$P<0.0001$, Fig. 2a). Durante el tiempo de infección (Fig. 2b) se observó una tendencia de un mayor grado de infección a partir del día 42 post-infección en el grupo de las conejas ovariectomizadas, que se incrementó paulatinamente hasta el día 63, en donde observó un grado de infección media en el 87% que en las conejas intactas (***$P<0.0001$, Fig. 2c y d).

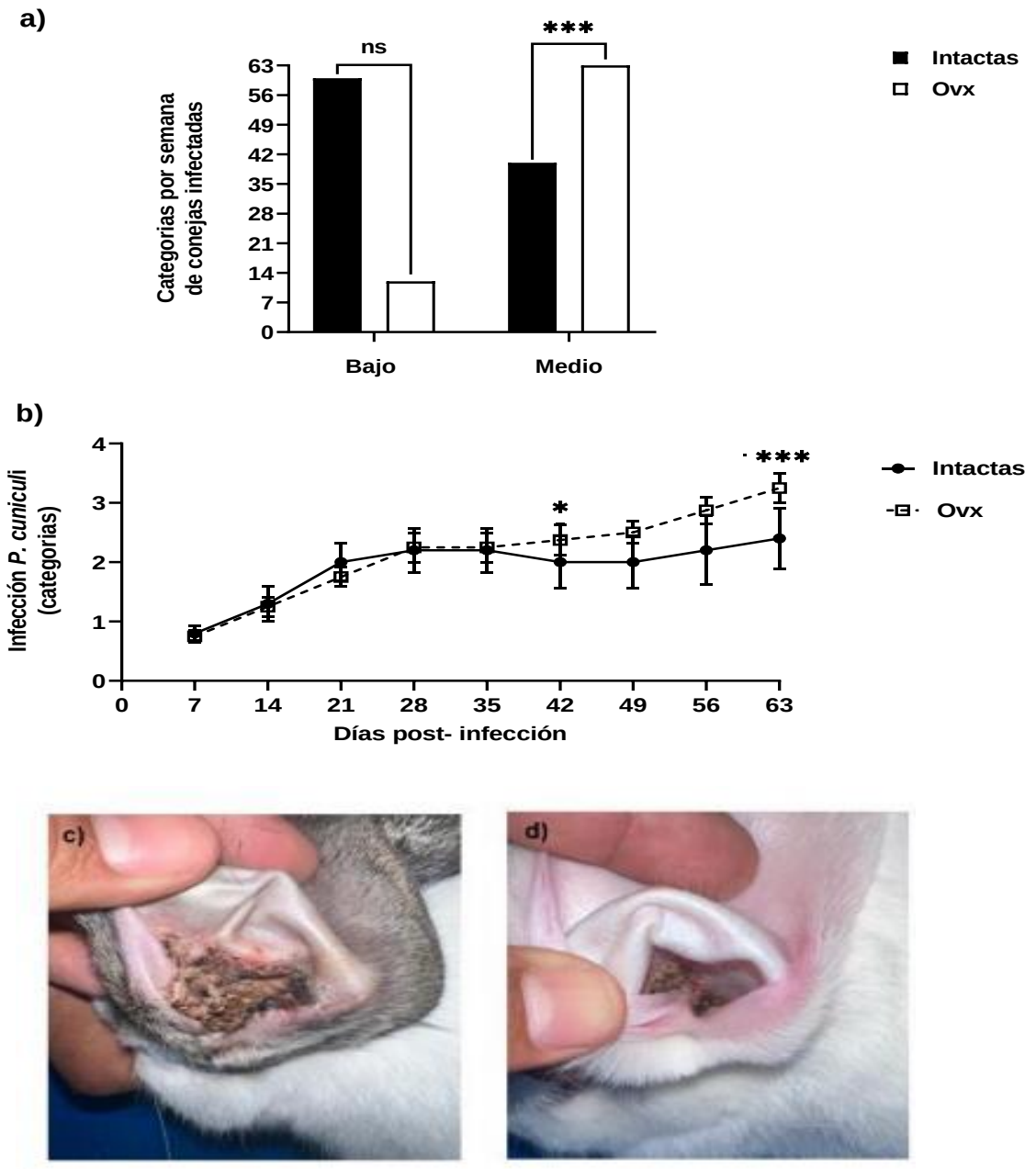


Figura 2. Diferentes categorías de infección evaluadas cualitativamente en conejas infectadas con Psoroptes cuniculi al día 63 post-infección (a), media±EE; (***P<0.0001), Prueba exacta de Fisher. Evaluación cualitativa del grado de infección a través del tiempo durante 63 días post-infección (b), media±EE, (***P<0.0001), ANOVA de medidas repetidas. Imagen representativas del área de la lesión causada por *Psoroptes cuniculi* en conejas ovariectomizadas (c) y conejas intactas (d) a los 63 días post-infección.

Evaluación cuantitativa de las lesiones causadas por la infección experimental con *Psoroptes cuniculi* evaluadas *post mortem* a los 63 días post infección.

La evaluación de la infección en los dos grupos de conejas infectadas con el ácaro *P. cuniculi* arrojó que el grupo de conejas intactas presentó un área de lesión menor que el grupo de conejas ovariectomizadas, que presentaron 66.66 % más de extensión de la lesión (**P<0.0098, Fig. 3a).

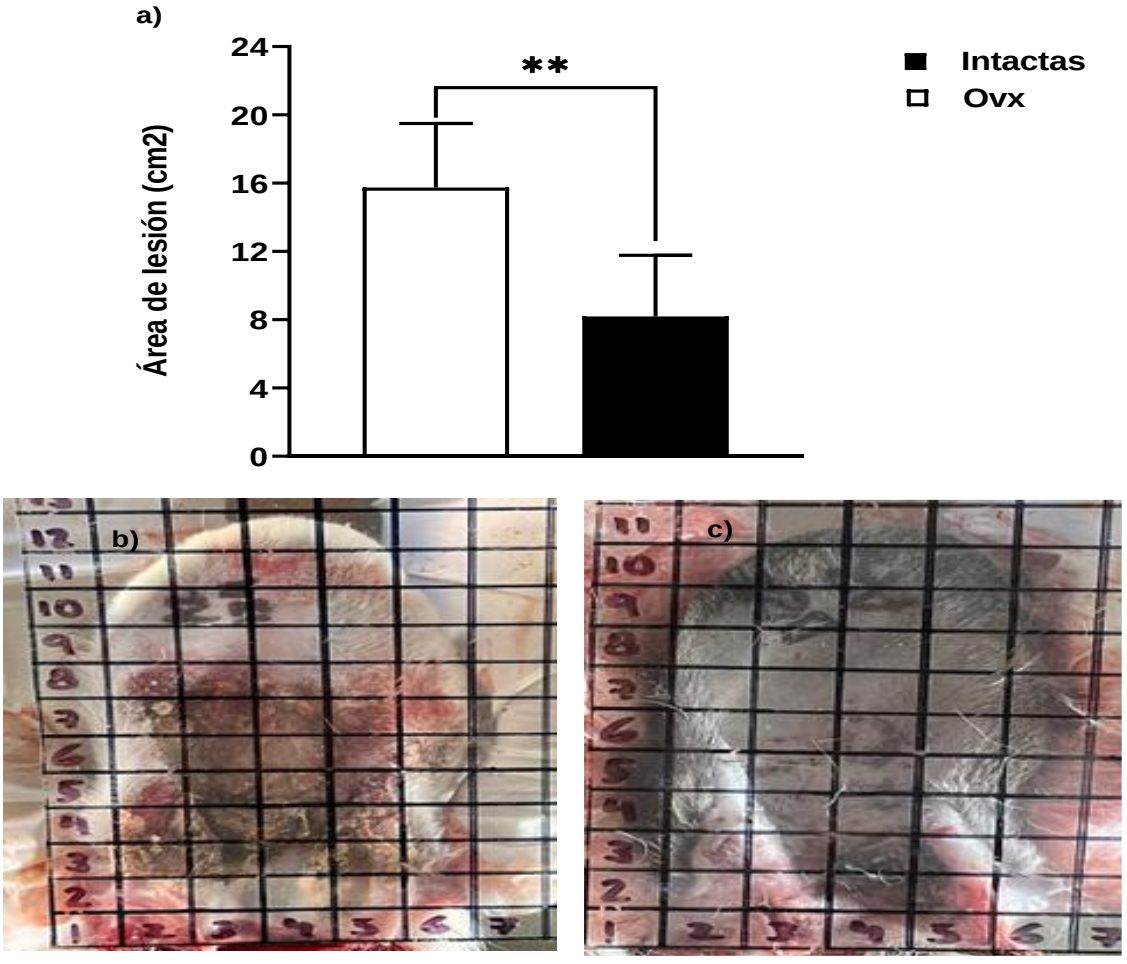


Figura 3. Evaluación cuantitativa del área de la lesión en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 63 post-infección (a), media±EE,(**P<0.0098), Prueba t de Student. Imágenes representativas del área de la lesión causada por *Psoroptes cuniculi* en conejas ovariectomizadas (b) y conejas intactas (c).

Evaluación de la conducta individual mediante la prueba de campo abierto

Al analizar la conducta locomotora individual durante 63 días post infección con el ácaro *P. cuniculi* se observó una disminución de un 6.21% en el grupo de conejas ovariectomizadas más infección versus el grupo de conejas intactas sin cambios entre grupos (P>0.52, Fig. 4a). En el análisis a través del tiempo, se observó una interacción significativa en el día 28 (*P<0.04) en el grupo de conejas ovariectomizadas. Sin embargo, no presentaron efectos significativos entre grupos y a largo del tiempo (P>0.37, P>0.17, Fig. 4b).

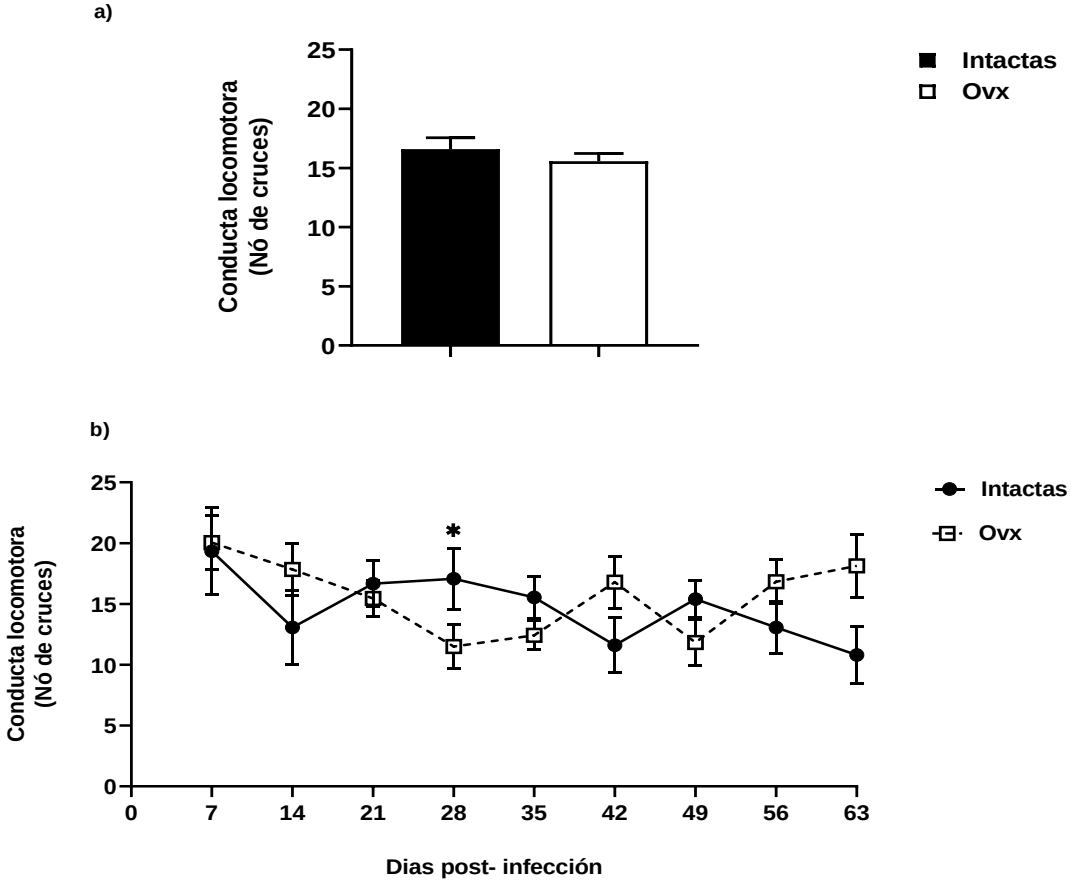


Figura 4. Conducta locomotora total (a) Prueba t de Student; (P>0.52) y a través del tiempo (b) ANOVA, de medidas repetidas (*P<0.04), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* durante 63 días post-infección; media±EE.

En la conducta de frotamiento del mentón durante 63 días post- infección con el ácaro *P. cuniculi* se determinó una disminución no significativa del 3% en el grupo de conejas intactas más infección con respecto al grupo de conejas ovariectomizadas más infección (P>0.58, Fig.5a), en el análisis a través del tiempo los resultados mostraron un efecto significativo (***P<0.0001) en la conducta del frotamiento del mentón a lo largo del tiempo en ambos grupos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la interacción entre el tiempo y efecto entre las conejas (P>0.95, P>0.22, Fig. 5b).

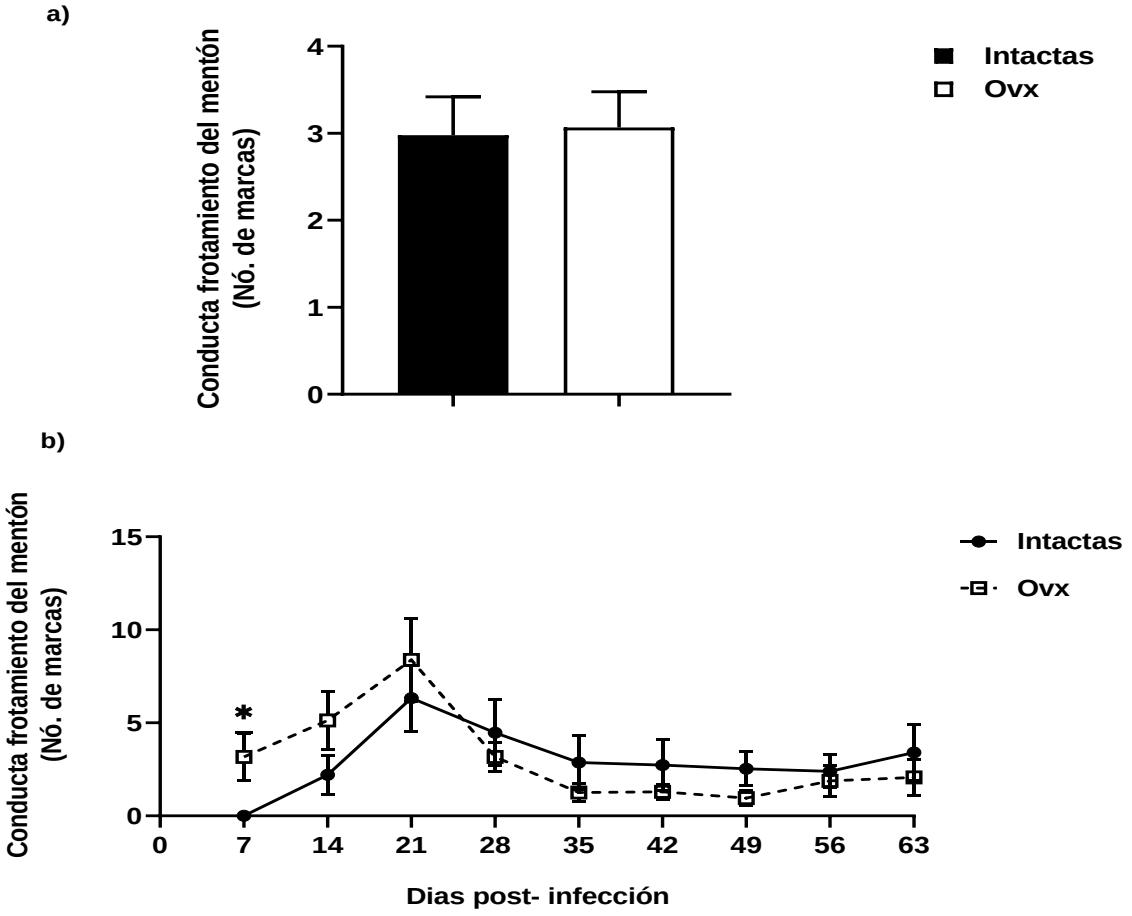


Figura 5. Conducta de frotamiento del mentón total (a), Prueba t de Student, (P>0.58, y a través del tiempo (b), ANOVA de medidas repetidas (***P<0.0001), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* durante 63 días post-infección; media±EE.

En la conducta exploratoria, el grupo de conejas intactas más infección disminuyó con respecto al grupo de conejas ovariectomizadas un 28.7% (**P<0.004, Fig. 6a); respecto al análisis a través del tiempo se observó un efecto significativo en el grupo de conejas ovariectomizadas versus conejas intactas (**P<0.003), en cambio no hubo efecto significativo a lo largo del tiempo, ni en la interacción entre el tiempo y los grupos de conejas infectadas (P>0.09, P>0.63, y, Fig. 6b).

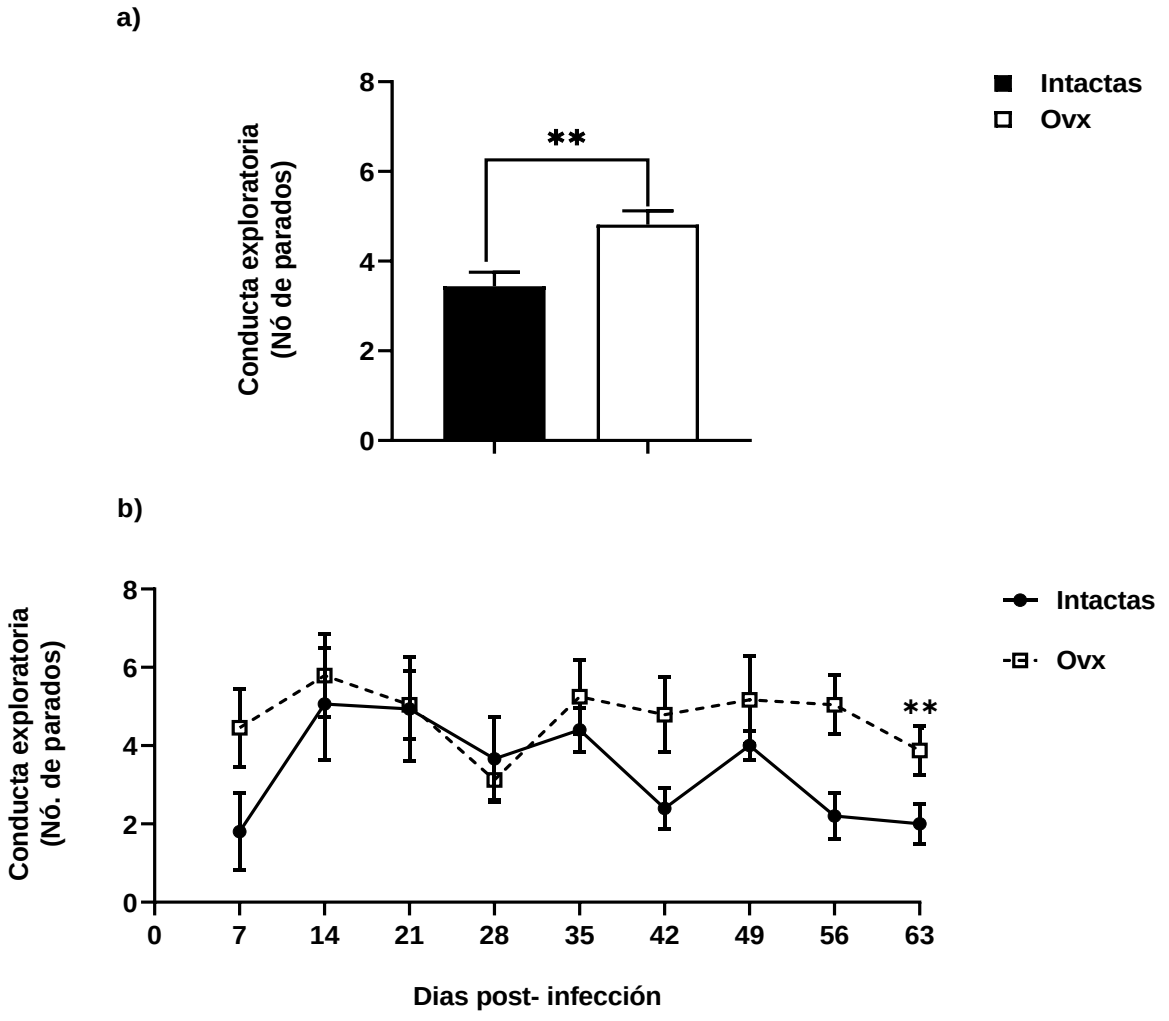


Figura 6. Conducta exploratoria total (a), Prueba t de Student (**P≤0.004), y a través del tiempo (b) ANOVA de medidas repetidas (**P<0.003), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post- infección; media± EE.

En la conducta de acicalamiento en el grupo de conejas ovariectomizadas presentó una disminución del 22.25% vs el grupo de conejas intactas (P<0.96, Fig. 7a), En el análisis a través del tiempo, se observó un efecto significativo en la conducta de acicalamiento a lo largo del tiempo en ambos grupos de conejas, (**P<0.004), en cambio no se indicó diferencias significativas en conejas intactas y ovariectomizadas (P>0.21), la interacción entre el tiempo y los grupos de conejas infectadas (P>0.11, Fig. 7b).

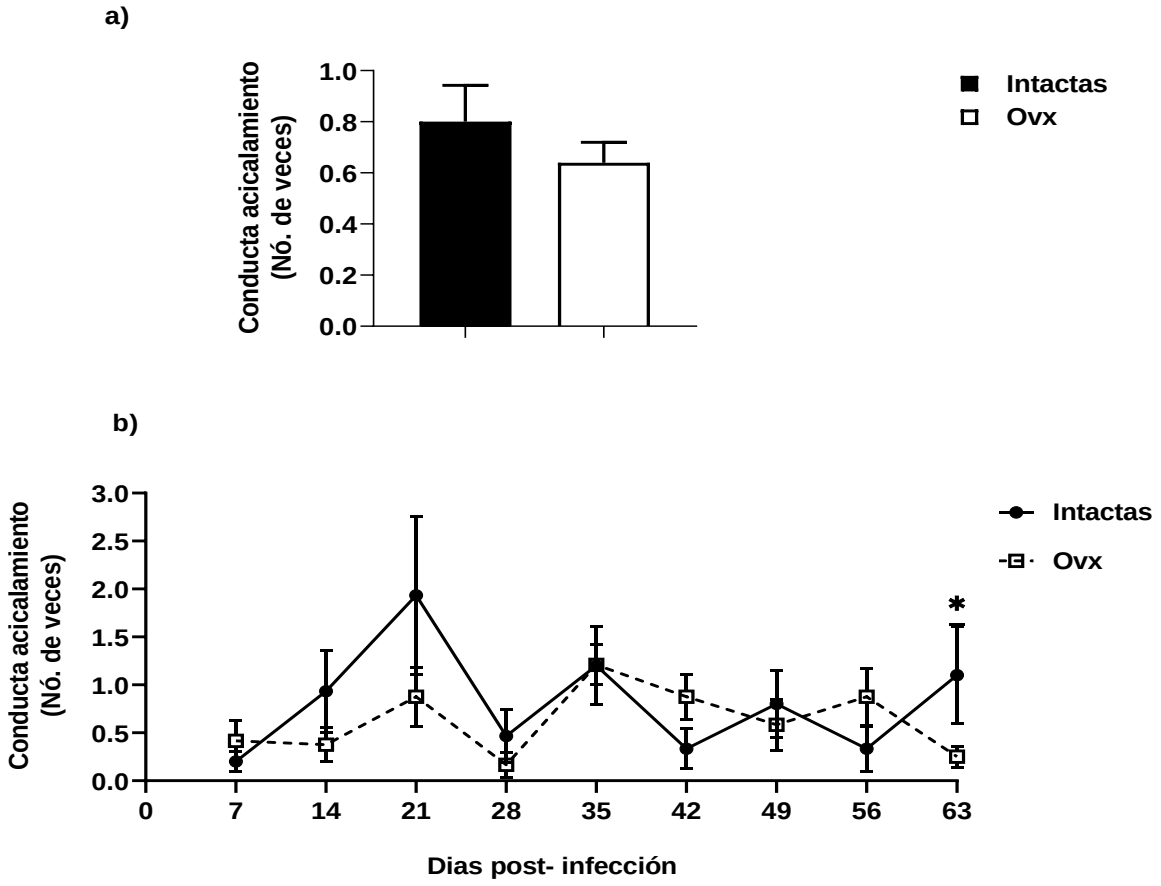


Figura 7. Conducta de acicalamiento total (a), Prueba t de Student, (*P<0.96), y a través del tiempo (b), ANOVA de medidas repetidas, (**P<0.004), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE.

En la conducta por micción se observó que el grupo de conejas ovariectomizadas más infección mostró una disminución significativa del 45.84% con respecto al grupo de conejas intactas más infección (*P<0.01, Fig. 8a). Los resultados en el análisis a través del tiempo mostraron una interacción significativa entre el tiempo y el grupo de conejas ovariectomizadas (**P<0.005), además se observó un efecto significativo a lo largo del tiempo en ambos grupos de conejas infectadas (*P<0.01), mostrando también un efecto significativo por grupo (*P<0.01, Fig. 8b).

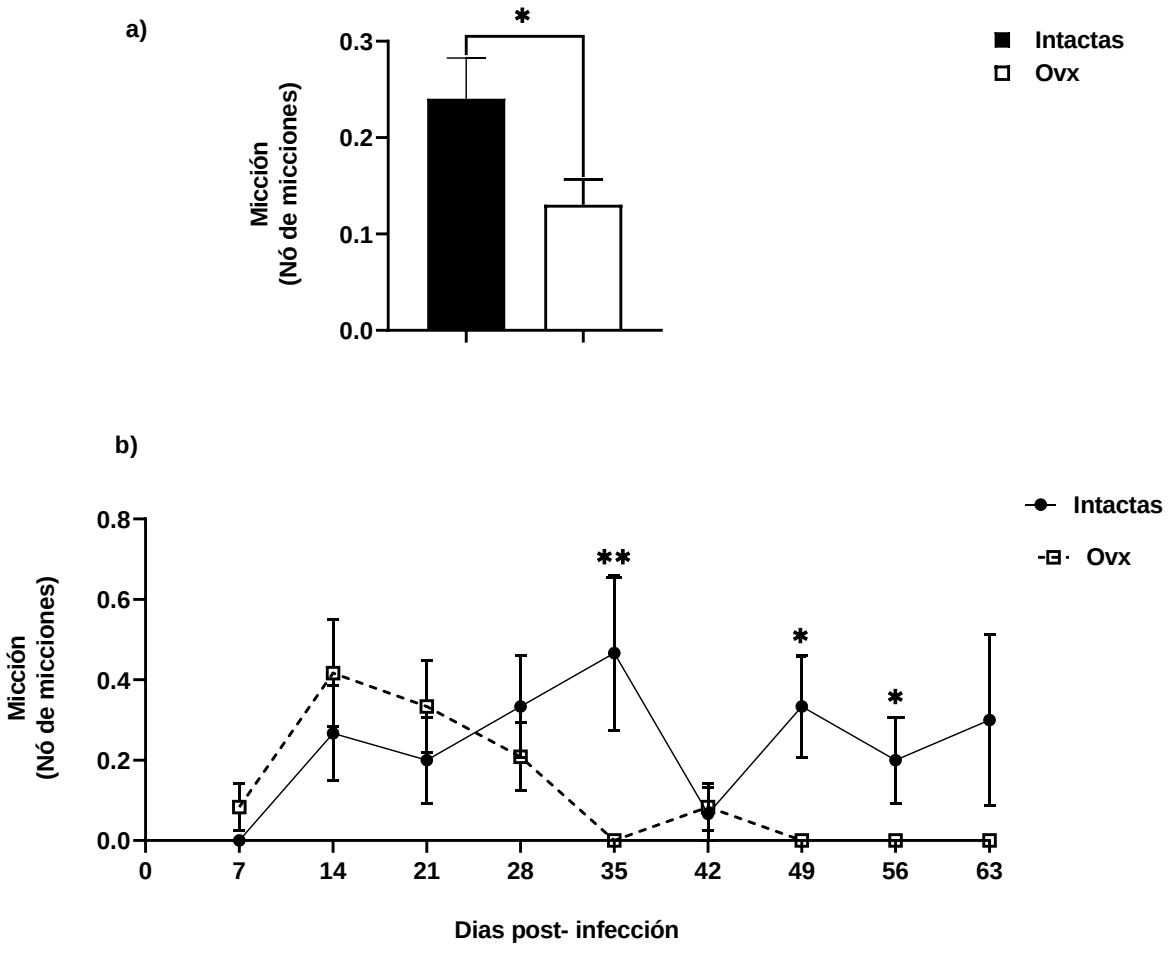


Figura 8. Micciones totales (a) Prueba t de Student, (*P<0.01), y a través del tiempo, (b) ANOVA de medidas repetidas, (**P<0.005 *P<0.01, *P<0.01, en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE.

En la frecuencia de defecaciones, se observó una disminución de un 23% en el grupo de conejas ovariectomizadas más infección en comparación con el grupo de conejas intactas (P>0.31 Fig. 9a). Sin embargo, en los análisis a través se mostró que el efecto del tiempo sobre la frecuencia de defecaciones fue similar en ambos grupos (P>0.33), no se observó efecto significativo a lo largo del tiempo (P>0.78), entre grupos de conejas intactas y ovariectomizadas (P>0.51, Fig. 9b).

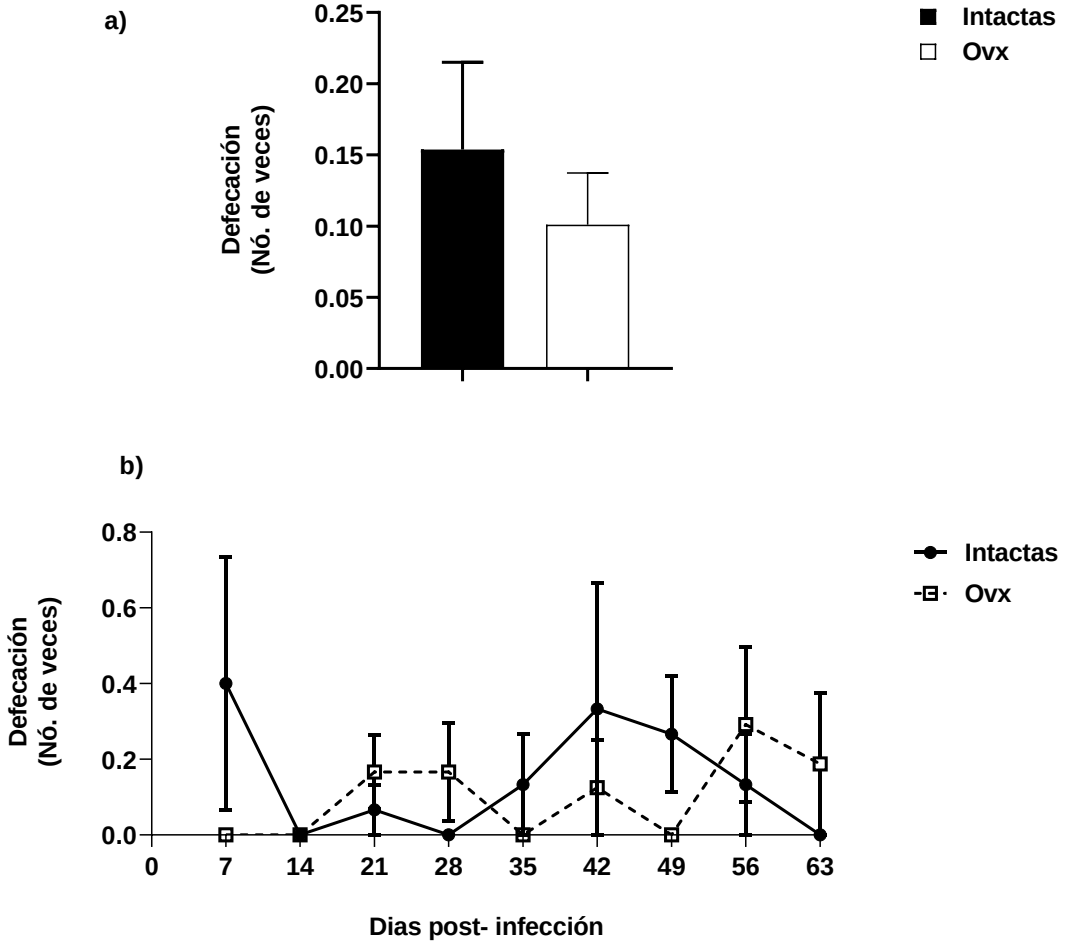


Figura 9. Defecaciones totales (a), Prueba t de Student, (P>0.31), y a través del tiempo (b) ANOVA de medidas repetidas, (P>0.33, P>0.78 y P>0.51) en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección; media±EE.

Cuantificación de los niveles de estradiol sérico en conejas ovariectomizadas e intactas infectadas

Con respecto a los niveles de estradiol en conejas infectadas, en el análisis a través del tiempo mostró que en el día 0 hubo una diferencia significativa entre ambos grupos (**P<0.005), en el día 0 las muestras se tomaron después de la aplicación del propionato de estradiol y el inicio de la infección con *P. cuniculi*, transcurrido el tiempo de la infección el día 63 presentó una disminución del 58.21% de estradiol en el grupo Ovx con respecto al grupo de intactas, (*P<0.03, Fig. 10).

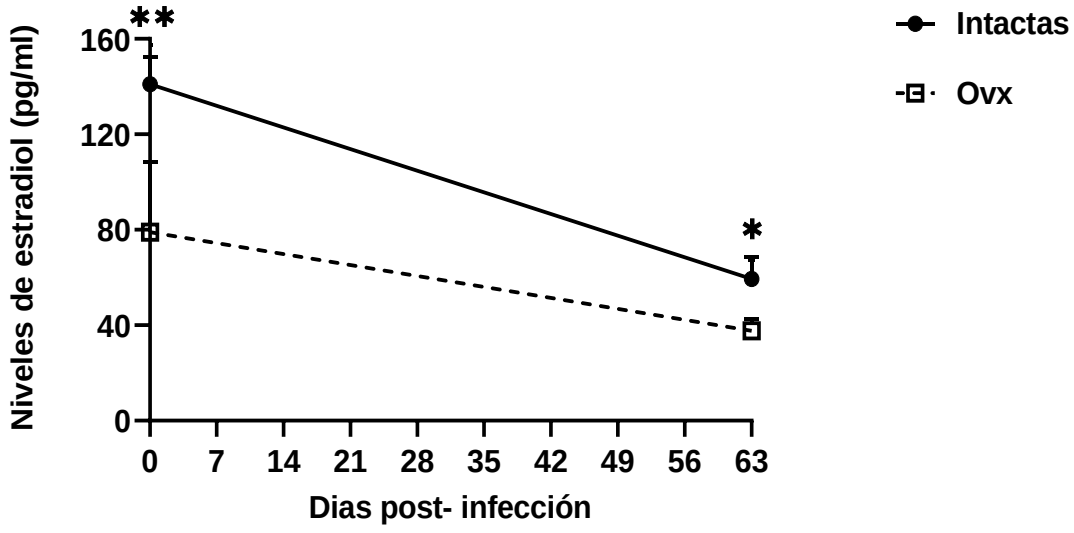


Figura 10. Estradiol. Niveles de estradiol, ANOVA de medidas repetidas, (**P<0.005; *P<0.03), en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi* al día 0 y 63 post-infección; media±EE.

Evaluación de la relación entre el grado de infección y el grado de afectación en las conductas individuales

En los análisis serológicos de estradiol con relación a las conductas individuales, en las conejas intactas se observaron correlaciones inversamente proporcionales en el día 0 y 63 en las conductas locomotora y exploratoria, mientras que las conducta de chinning, micción, defecación y acicalamiento no presentaron correlación. El grupo de conejas Ovx presentaron una correlación inversamente proporcional en el día 0 y 63 en la conducta locomotora, exploratoria, micción y defecación; sin embargo, en chinning y acicalamiento se presentó una relación directamente proporcional (Cuadro 1).

Conducta Locomotora	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	-0.1447	0.9075	-0.8385	0.3669
Día 63	-0.6897	0.5154	0.5252	0.648
Conducta Exploratoria	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	-0.3394	0.7795	-0.8386	0.3667
Día 63	-0.0474	0.9698	-0.2402	0.8456
Conducta Chinning	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	-0.3592	0.7661	0.1373	0.9123
Día 63	-0.6649	0.5369	-0.6934	0.5122
Conducta Micción	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	0	0	0	0
Día 63	-0.724	0.4846	0	0
Conducta Defecación	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	0	0	0	0
Día 63	0	0	0	0
Conducta Acicalamiento	**Intactas r**	**P Intactas**	**Ovx r**	**P Ovx**
Día 0	0	0	0.7892	0.421
Día 63	0	0	0.9707	0.1544

Cuadro 1. Correlación entre los niveles de estradiol y las conductas individuales los días 0 y 63 en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi*. Prueba de Pearson.

Evaluación de la relación entre los niveles de estradiol y el grado de infección

Con relación al grado de infección cuantitativo y los niveles de estradiol en el día 0 y 63 el grupo de conejas intactas presentó una correlación positiva fuerte; con respecto al grupo de las Ovx, el día 0 se observó una correlación positiva débil, al día 63 se presentó una correlación positiva fuerte (Cuadro 2).

Cuadro 2. Correlación de los niveles de estradiol y el grado de infección en conejas infectadas con *Psoroptes cuniculi*. Prueba de Pearson.

Grado de Infección vs E2	Intactas r	P	Ovx r	P
Día 0	0.9878	0.0994	0.2676	0.8275
Día 63	0.9594	0.1821	0.9226	0.2521

Efecto de la infección con *P. cuniculi* sobre el peso corporal, glándulas submandibulares, hígado y bazo en conejas ovariectomizadas e intactas

Las conejas ovariectomizadas infectadas presentaron una disminución no significativa de 9.5 % en el peso corporal (P>0.29) en comparación con el grupo de las intactas infectadas (Fig.12).

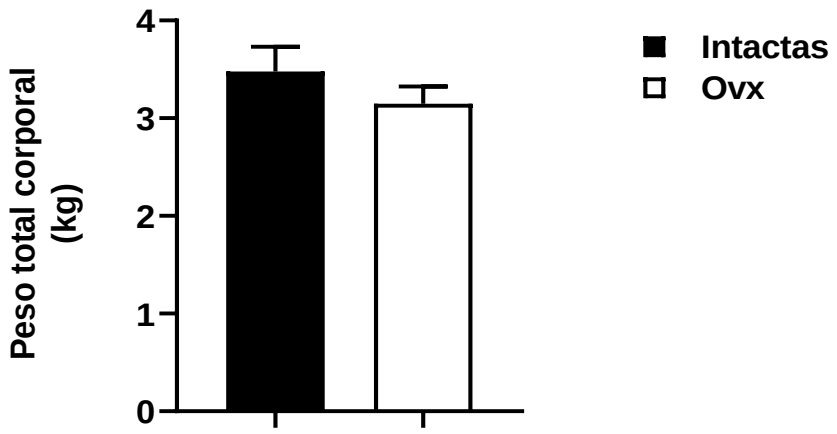


Figura 11. Peso corporal total en conejas infectadas con Psoroptes cuniculi a los 63 días post-infección, (P>0.29), Prueba de t-Student; media±EE.

Al analizar el peso total de las glándulas submandibulares no se observó diferencias entre grupos (P>0.69, Fig. 13a). En las glándulas submandibulares obtenidas del lado izquierdo (P>0.66, Fig. 13b) y derecho (P>0.84, Fig. 13c) de cada animal, sin embargo, no presentaron diferencias significativas entre grupos.

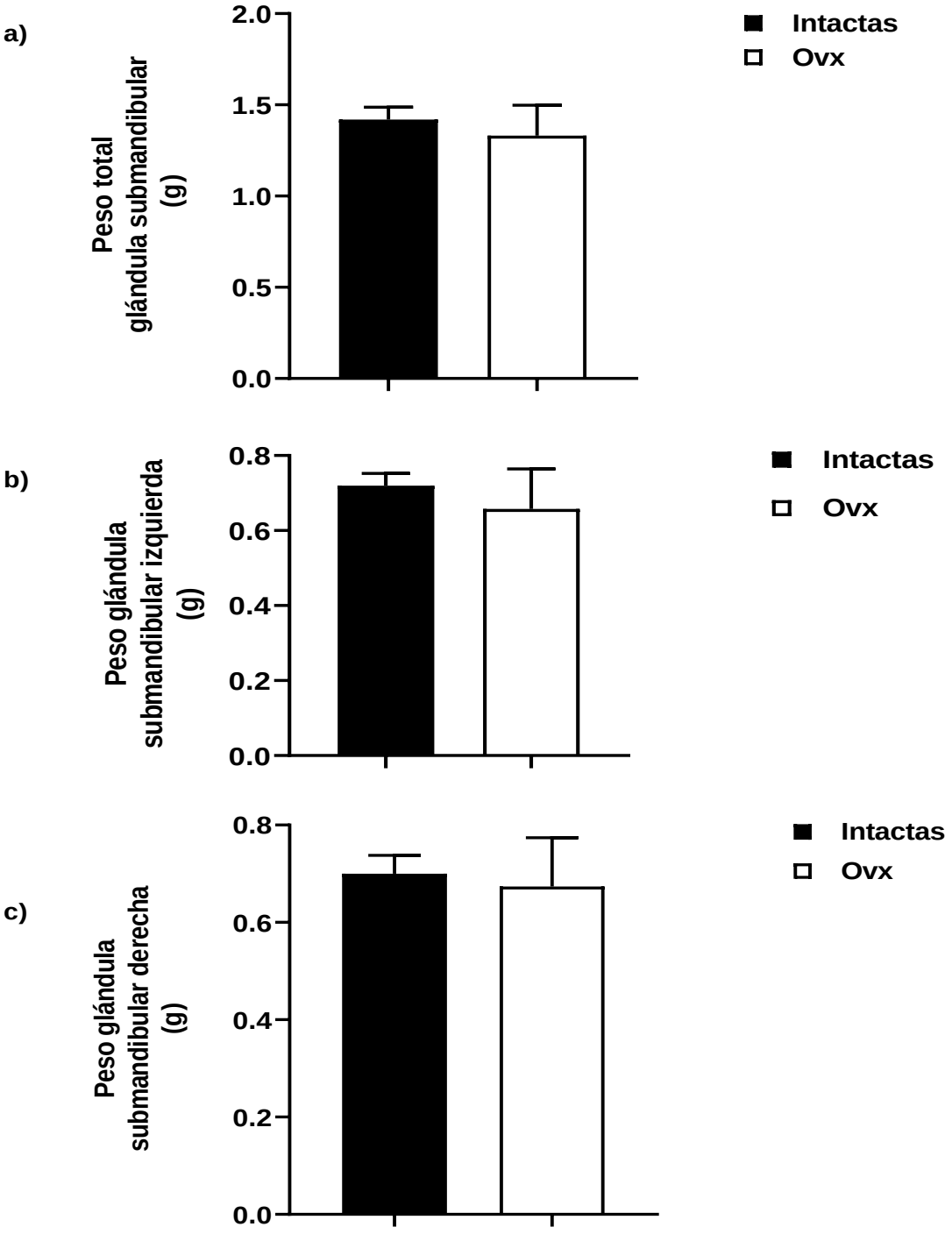


Figura 12. Peso total de las glándulas submandibulares (a), (P>0.69), glándula submandibular izquierda (b), (P>0.66), y glándula submandibular derecha (P>0.84) al día 63 post-infección; Prueba de t-Student; media± EE.

Con respecto al peso hepático en conejas ovariectomizadas se observa una disminución significativa de 14.5% vs el grupo de las intactas infectadas (*P<0.03, Fig. 13a). Respecto al peso del bazo, en el grupo de conejas ovariectomizadas se observa una disminución no significativa (P>0.65, Fig. 13b).

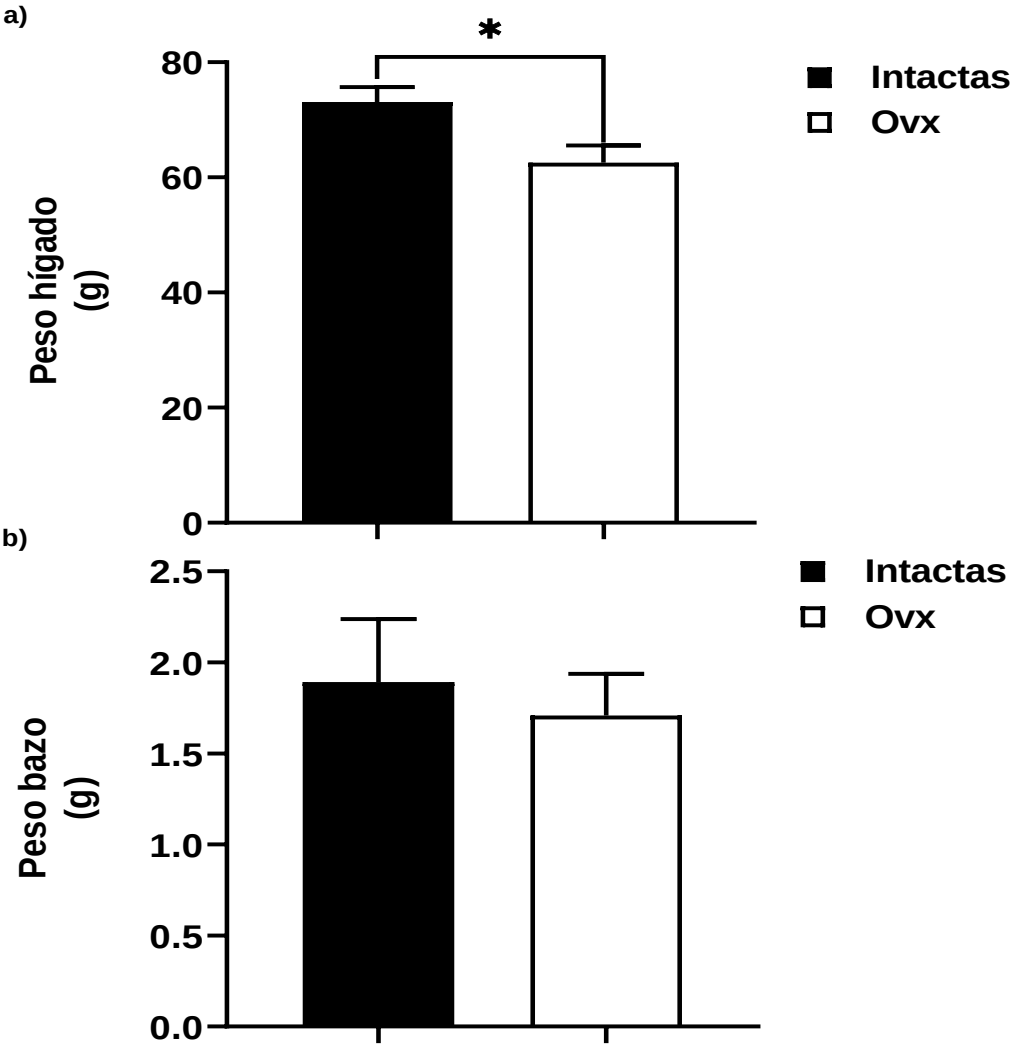


Figura 13. Peso del hígado (a) (*P<0.03), y bazo (b) (P>0.65) de conejas infectadas con Psoroptes cuniculi al día 63 post-infección; Prueba de t-Student; media±EE.

DISCUSIÓN

En este estudio se ha demostrado que la disminución de hormonas sexuales mediante la gonadectomía puede influir en la respuesta inmunológica, ya que el grado de infección experimental con el ectoparásito *Psoroptes cuniculi* fue diferente en conejas ovariectomizadas, observándose una mayor susceptibilidad. Este resultado coincide con el estudio de Sano *et al*, 1992, en el cual las ratonas infectadas con *Paracoccidioides brasiliensis* que tenían niveles más altos de estrógeno fueron menos susceptibles a la infección que las hembras infectadas durante otras etapas del ciclo estral en donde expresaban niveles de estrógeno más bajos. De igual manera en ratonas infectadas con *Trypanosoma cruzi* se demostró que la infección provocó 100 % de mortalidad en hembras ovariectomizadas y solo un 50 % en el grupo de hembras enteras, transcurridos 90 días post-infección (Bello-Gonzales, 2012) y en cerdos gonadectomizados e infectados con P=≥0.7730*Trichinella* spp se observó una mayor carga parasitaria en comparación con cerdos intactos asociándolo a la edad, sexo, estado nutricional, hormonal y respuesta inmunológica (Reveles-Hernández, 2011).

Se infiere que la disminución de estrógenos produce un impacto en la susceptibilidad de ciertas infecciones parasitarias a través de efectos directos o indirectos sobre la respuesta inmune. Se ha reportado que los estrógenos tienen efectos en la regulación de las inmunoglobulinas (Wira *et al.,* 1980), en la función y el número de neutrófilos, en la producción del anión superóxido y de la mieloperoxidasa, así como en la estimulación de citoquinas como factor de necrosis tumoral (TNFα) e interleucina 6 (IL 6) (Fettke *et al.,* 2014; Ávila *et al*., 2019).

Para realizar la evaluación de la infección con *Psoroptes cuniculi* en el pabellón intrauricular de las conejas utilizamos dos técnicas, la cualitativa y la cuantitativa. La evaluación cualitativa (Guillot *et al.,* 1982; Kurade *et al.,* 1996) permitió evaluar las lesiones provocadas por el ácaro a través del tiempo durante los 63 días que duró la etapa experimental de manera no invasiva; se observó un mayor grado de infección en las conejas ovx, con un 85.5% en comparación con las conejas intactas. En la evaluación cuantitativa se observó que

el grupo de conejas intactas presentó un área de lesión menor en comparación con el grupo de conejas Ovx que presentó un área de lesión del 66% mayor en comparación con el grupo control. De acuerdo con Dunstand-Guzmán *et al*. (2017) esta técnica permite cuantificar de manera precisa y confiable el área auricular dañada en cm^2, sin embargo, esta técnica solo se puede realizar al sacrificio, ya que se necesita que la oreja se expanda totalmente y para colocar encima la plantilla cuadriculada en cm^2, permitiendo identificar y cuantificar todo el daño en el oído medio e interno, a diferencia de la evaluación cualitativa. Hasta el momento no existe una evaluación que permita cuantificar la cantidad exacta de ácaros presentes en la oreja de un hospedero.

En el presente estudio se observó que la actividad exploratoria disminuyó un 28.7% en el grupo de conejas Ovx con relación al grupo de conejas que poseían ovarios, lo que permite proponer que las hormonas ováricas favorecen la actividad exploratoria. De acuerdo con un estudio (Webster, 1994) en donde la infección fue causada por el endoparásito *T. gondii*, se observaron mayores niveles de actividad en el comportamiento de los roedores. De acuerdo con Bohn *et al*. (2017) reportó que en ardillas listadas (*Tamias minimus*) con más actividad exploratoria albergaron una mayor abundancia de ectoparásitos (pulgas, ácaros y piojos) *Eumolpianus* spp, *Ceratophyllus* spp, *Ctenophthalmus* spp, en comparación con individuos menos exploradores, la exploración como factor en la dinámica huésped-parásito y puede ser una correlación conductual importante en la adquisición del parásito. Se infiere que el aumento de la actividad exploratoria en algunos hospederos es provocado por el parásito como un mecanismo para optimizar su transmisión a otros huéspedes.

En la actividad de micciones, el grupo de conejas Ovx presentó una disminución del 45 % en el número de micciones en comparación con el grupo de conejas intactas infectadas; Onal *et al*., 2007 indican que la Ovx induce reducciones en el flujo sanguíneo e hipoxia, provocando daños en los compartimentos mucosos del músculo de la vejiga, generando especies reactivas de oxígenos, con una cantidad mayor de actividad de superóxido

dismutasa, lo que indica estrés oxidativo en tracto urinario; también, Gómez–Ayala, 2010 indicó que los síndromes de urgencia–frecuencia miccional están relacionados con la atrofia urogenital a la disminución de la producción estrogénica, lo que implica la pérdida del control voluntario de la micción, el tracto urinario y genital femenino son estructuras sensibles a la acción de hormonas sexuales femeninas y se ha demostrado la existencia de receptores de estrógenos y progestágenos en la vagina, en la vejiga, en la uretra y en la musculatura del suelo pélvico.

En el efecto de la infección por *P. cuniculi* con respecto al peso del hígado, en este estudio se observó una disminución del 14.5% en el grupo de conejas ovariectomizadas vs el grupo de las intactas. El proceso inflamatorio se manifiesta como parte de la respuesta inmunológica del organismo cuando existe un daño tisular que puede ser causado por infecciones bacterianas, virales, parasitarias o trastornos metabólicos pueden alterar el tamaño del hígado. Asimismo, la Ovx conduce a una insuficiencia de estrógenos la cual refleja una variación de los parámetros antioxidantes y oxidativos en hígados de ratas (Kankofer *et a*l., 2007), además de que los receptores de estrógeno que se encuentran en el hígado ayudan a los hepatocitos a proliferar y diferenciarse promoviendo la regeneración hepática en ratones ERα-KO o ERβ-KO vs ratones de tipo salvaje (Kao *et al*., 2018).

En la cuantificación de los niveles hormonales, el grupo Ovx tuvo una disminución del 58.21% en los niveles de estradiol, lo que se observó con estos resultados es que a menor concentración de estradiol hay un mayor aumento en la infección con *Psoroptes cuniculi*. Según Faccio *et al.* (2013), en hembras infectadas con *Trypanosoma evansi* hay una disminución de LH, FSH, estradiol y progesterona en diferentes periodos y fases del ciclo estral en comparación con ratas no infectadas, lo que demostró que la infección puede provocar cambios en los niveles hormonales.

En el presente trabajo se infiere que el sistema hormonal ovárico participa en la regulación de la infección del ácaro *Psoroptes cuniculi* en conejas domésticas, esto se puede

explicar con las observaciones donde se reportó que en conejos machos infectados con el ácaro, disminuyen las conductas individuales y sexuales (González–Chávez, 2021) lo cual nos da la premisa de suponer que el grado de infección en las coneja Ovx puede ser un indicativo de que el ácaro *P. cuniculi* puede ser más susceptible en un ambiente de testosterona que en un ambiente estrogénico. Por lo tanto, los parásitos pueden afectar a machos y a hembras de manera diferente, lo que conlleva a patrones específicos de susceptibilidad a los parásitos por sexo (Tschirren *et al*., 2003). Las evidencias han demostrado que las hormonas sexuales confieren mayor grado de resistencia en términos de reducir la carga parasitaria en ciertas parasitosis (Klein, 2004), sin embargo esta condición no es una ley universal ya que en ciertas parasitosis la testosterona funciona como un escudo en una carga parasitaria y en hembras tienden a ser más susceptibles a ciertas infecciones parasitarias, ya que pueden modular una respuesta inmunológica (Alexander *et al*.1988), esto se debe a las señalizaciones a través de los receptores estrogénicos que regulan la activación de células B (Asaba *et al*., 2015), por lo que en hembras se produce una mayor cantidad de anticuerpos totales (IgM, IgG y IgA), teniendo una mayor capacidad para montar respuestas de anticuerpos específicos, produciendo una mayor producción de citocinas tipo Th2 como IL-4, 5, IL-6 y IL-10 (Cervantes-Rebolledo & Carrero Sánchez, 2008).

CONCLUSIONES

La evaluación cualitativa permite concluir que la ausencia de hormonas ováricas influye en el aumento en el grado de infección por *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección en conejas.

La evaluación cuantitativa muestra que la ausencia de hormonas ováricas influyó en un aumento del 66.66% en el área de la lesión por la infección de *Psoroptes cuniculi* a los 63 días post-infección en conejas.

EXPERIMENTO 2

Efecto anticoccidiano del extracto acuoso *Pleurotus djamor* en conejos domésticos *Oryctolagus cuniculus*

El estudio de los mecanismos fisiológicos y conductuales del conejo como especie doméstica permite comprender el curso de una enfermedad para proporcionar un tratamiento y facilitar un diagnóstico certero y oportuno. El conejo es un hospedero natural de infecciones parasitarias, por consiguiente, para que se pueda desarrollar una infección parasitaria se requiere de tres factores importantes: el ambiente, el agente biológico y un organismo susceptible, los cuales se relacionan entre sí para completar una etapa o el ciclo de vida de un parásito. Con relación a los endoparásitos como causantes de infecciones en varias especies hospederas de importancia médica veterinaria, se ha referido que parásitos patógenos han logrado adquirir estrategias de transmisión complejas y menos comprendidas manipulando el comportamiento y el deterioro de la salud de un animal (Lagrue & Poulin, 2009). A su vez, se ha descubierto que en animales enfermos infectados sé manifiestan sustancias químicas de suma importancia como las citocinas que están involucradas en la inducción de diferentes tipos de conductas (Flores et al., 2005) causando también el retraso en el crecimiento en animales jóvenes; incluso, la infección puede provocar la muerte del organismo.

Mediante la observación del comportamiento y signos clínicos es posible reconocer con facilidad signos y conductas de un animal enfermo, como falta de apetito, pérdida de peso, dificultad para respirar, reposo, pelo áspero, menor acicalamiento, entre otras. Las causas de estos síntomas pueden ser por múltiples factores, tanto ambientales como nutricionales, enfermedades respiratorias o parasitarias. Una observación simple es la diarrea como indicativo de enfermedad, la cual puede ser de evolución lenta o rápida provocando la muerte del organismo, que se puede presentar en gazapos o adultos de cualquier edad. Una de las enfermedades parasitarias infecciosas más comunes que provoca diarrea son los protozoarios

patógenos del género *Eimeria*, en donde se ha demostrado que las especies de *Eimeria* tienen un alto biopotencial, ya que la ingestión de un solo ooquiste esporulado de *E. media*, *E. piriformis*, *E. magna*, *E. perforans*, *E. exigua* o *E. coecicola* podría producir con éxito una infección patente con una alta especificidad de huésped (Ming–Hsien *et al.,* 2010), desencadenando una disminución en la productividad de los animales en la producción pecuaria económicamente importantes, no solo en conejos sino también en aves, bovinos, ovinos y caprinos (Badiola *et al.,* 2015).

Se han descrito once especies de *Eimeria* en conejos (Katsui *et al.,* 2022) que varían conforme a su morfología y patogenicidad, colonizando el tracto y el revestimiento epitelial del intestino, y una especie (*Eimeria stiedae*) infectando hígado y conductos biliares, que proporciona un ambiente nutritivo y accesible en donde se desarrollan. La parasitosis por coccidias se inicia con la ingesta de alimentos o agua contaminada con heces que contienen ooquistes infectantes. Los ooquistes ingresan por vía oral y circulan por el aparato digestivo, los componentes gástricos y enzimas junto con las condiciones de oxigenación, temperatura y humedad hacen posible el desarrollo de los ooquistes que se dividen y forman esporozoitos (fase de esporulación); después los esporozoitos son liberados e ingresan a las células en donde inicia un proceso de división o reproducción asexual generando dentro de la célula los trofozoítos. Posteriormente se lleva a cabo la fase denominada esquizogonia, primer estadio del esquizonte, lo cual ejerce acción sobre la célula, liberando merozoitos, iniciando otro proceso de reproducción asexual siendo un ciclo reinfectivo o segunda esquizogonia, liberando nuevamente unidades infectantes (esporozoítos y merozoitos) que penetran nuevamente a la célula y dependiendo de la especie de *Eimeria* dependerá el número de esquizogonias, la tercera fase llamada gametogonia, los merozoitos liberados del esquizonte penetran a la célula para dar proceso a la reproducción sexual, se forman por separado los macro (hembra) y micro (machos) gametos, estos son liberados de la célula, penetran la célula donde se encuentra un macrogameto para formar una estructura llamada zigoto, el cual es

liberado como ooquiste y expulsado mediante la defecación comenzando un nuevo ciclo infectante (Ladrón de Guevara–Aguilar *et al.,* 2015; Ghany 2020).

Para el control de coccidiosis en diversas especies domésticas se utilizan fármacos comerciales producidos por empresas farmacéuticas, cuya síntesis es costosa (Jiménez, 2013). La acción de la mayoría de los fármacos anticoccidianos es pobremente entendida. En algunos casos el modo de acción puede ser deducido de la estructura química o de los estudios de laboratorio con otros sistemas o modelos. Actualmente, existen numerosos estudios referentes a la prevención y saneamiento con diversos fármacos en diferentes presentaciones. Particularmente para el tratamiento de *Eimeria* en granjas cunícolas, existen medicamentos anticoccidiales que son los ionóforos, los cuales actúan sobre los gradientes iónicos de la membrana celular del parásito (monensina, narasina, maduramicina, salinomicina) y los anticoccidiales como el diclazuril, nicarbazina, clopidol, sulfaquinoxalina pirimetamina, sulfadimidina y robenidina (Peeters *et al.,*1981) principalmente previniendo la infección. Uno de los fármacos que más destaca por su mecanismo de acción en la industria farmacéutica veterinaria es el Toltrazuril, que actúa alterando negativamente la actividad enzimática de la mitocondria y la síntesis de ácidos nucleicos, inhibiendo el transporte de electrones en la fosforilación oxidativa en protozoarios sin afectar la salud del hospedero.

Después de la administración, es absorbido en el intestino delgado, distribuyéndose en el plasma y diferentes tejidos (músculo, piel, grasa, hígado y riñones). El mecanismo de acción del toltrazuril impide el desarrollo de los estadios asexuales y sexuales de los coccidios, produciendo anormalidades en el aparato de Golgi, retículo endoplasmático y espacio perinuclear, impidiendo la división celular y la formación de la pared del microgameto y macrogameto (PiSA, 2024).

De acuerdo con la ficha técnica de toltrazuril, éste presenta un índice terapéutico elevado; sobredosis de 5-10 veces la dosis, sin efectos colaterales. El fármaco no ha sido probado en hembras gestantes y por lo tanto no se recomienda en este periodo. Hasta el momento no hay registros de toxicidad o de efectos secundarios por el uso de este anticoccidiano, sin embargo, el tiempo de retiro del medicamento va a depender de las especies tratadas.

Si bien los antiparasitarios son medicamentos que previenen y eliminan agentes patógenos que provocan infecciones en los animales de consumo humano, pueden provocar a su vez una creciente resistencia en los agentes parásitos cuando hay un mal manejo de dosificaciones (FDA, 2010) o sin la supervisión profesional. Una propuesta alternativa a estos inconvenientes son los tratamientos biológicos que han propuesto reducir al parásito sin afectar al hospedero, beneficiando a productores con bajos costos y fácil acceso a estos productos, por lo que se propone usar extractos naturales que garanticen la disminución o eliminación de parásitos, promoviendo al mismo tiempo productos inofensivos para el consumo humano, por tal motivo se han buscado otras alternativas naturales para abatir parásitos mediante extractos de hojas, plantas y hongos.

Asimismo, en los últimos años se han evaluado tratamientos naturales para usarlos como control biológico de parásitos en animales domésticos (Lazcano-Torres *et al*., 2015), utilizando los biocompuestos de productos de origen vegetal producidos por cualquier organismo vivo. De manera que, para el uso de extractos naturales que presentan una actividad farmacológica, se requieren de más estudios que profundicen en detallar los principios activos. Por lo tanto, una alternativa como agente de control de parásitos de importancia pecuaria son los hongos comestibles, los cuales presentan propiedades benéficas para animales, plantas y humanos (Rodríguez–Barrera, 2022).

Una de las propuestas para el control o disminución de patógenos parásitos es el hongo del género *Pleurotus,* el cual posee propiedades nutritivas y farmacéuticas, sus biocompuestos se han obtenido a partir de diversos procesos como: maceración, fermentación, infusión, decocción y esencias (INIFAP, 2022), ayudando a minimizar o combatir diversas infecciones parasitarias.

Los hongos del género *Pleurotus* cuenta con diferentes metabolismos secundarios, lo que permite que tengan una amplia aplicación (Robledo *et al.,* 2015), desde antioxidantes (Guzmán *et al.,*2009; Saha & Sandeeo, 2011; Acharya *et al.,* 2017; Huaping *et a*l., 2017) hasta antibacterianos (Valencia del toro *et al.,* 2008). Una de las características de este hongo es que se cultiva comercialmente en diversos países, debido a sus características de crecimiento, sus ciclos de cultivo cortos y aceptable valor nutricional, por lo cual es una especie comestible adecuada para su propagación y consumo humano (Salmones, 2017).

Diversos trabajos han demostrado que los extractos a diferentes concentraciones de este hongo del género *Pleurotus* tienen propiedades anticoccidiales. Por ejemplo, en aves se ha reportado que se puede utilizar como aditivo alternativo a los antibióticos en dietas para pollos de engorda infectados con *Eimeria spp* (Lima *et al.*, 2021), en codornices japonesas, la inclusión de *Pleurotus ostreatus* en la dieta resultó muy eficaz en la eliminación de ooquistes y reducción de las lesiones en el ciego, proponiendo como remedio natural, ecológico y rentable como anticoccidial (Nasir *et al*., 2023), en otro estudio en aves de corral infectadas naturalmente con *Eimeria spp*, se demostró que *Pleurotus ostreatus* no presentó toxicidad, administrando individualmente dosis por vía oral del extracto acuosos del hongo, fueron observados durante 24 horas, para detectar cualquier signo de toxicidad (parpadeo, jadeo, letargo, salivación, incoordinación, cambios de comportamiento o muerte), propuesto como fuente potencial anticoccidial para el control de coccidiosis aviar, (Ademola *et al.,* 2019).

JUSTIFICACIÓN

Se necesita encontrar alternativas, que aseguren la disminución de las poblaciones parasitarias de *Eimeria* mediante el uso de productos naturales para reducir costos económicos en la producción cunícola.

Se propone evaluar el extracto acuoso del hongo *Pleurotus djamor* como anticoccidiano en conejos adultos infectados experimentalmente con coccidias del género *Eimeria*.

HIPÓTESIS

El extracto acuoso de *Pleurotus djamor* tiene un efecto anticoccidiano en conejos adultos infectados por *Eimeria* spp

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto anticoccidiano de una monodosis del extracto acuoso de *Pleurotus djamor* en conejos domésticos

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto anticoccidiano del extracto acuoso *Pleurotus djamor* mediante la cuantificación de ooquistes en conejos domésticos infectados con *Eimeria spp.*
- Analizar peso corporal y parámetros fisiológicos (temperatura y glucosa) en conejos domésticos infectados con *Eimeria spp* tratados con el extracto acuoso *Pleurotus djamor.*
- Registrar alteraciones en el peso de hígado e intestino de conejos domésticos infectados con *Eimeria spp* tratados con el extracto acuoso *Pleurotus djamor.*
- Describir las lesiones macroscópicas en hígado e intestino en conejos domésticos infectados con *Eimeria spp* tratados con el extracto acuoso de *Pleurotus djamor.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones éticas

Los animales utilizados fueron tratados bajo los criterios de la NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”, legislación vigente en materia de bienestar y experimentación, en concordancia con las normas de bienestar animal. El presente trabajo fue aprobado por el Comité Interno de Bioética en Animales de Experimentación (CIBIOAE), con número de folio: 2023-12.

Animales

Se utilizaron 18 conejos adultos (3±0.05 kg) de tres razas (Nueva Zelanda, California y Chinchilla). Los conejos permanecieron en condiciones convencionales de granja, alojados en jaulas individuales de 60X90X40 cm, se alimentaron con 180 g de alimento comercial en pellet (15 % proteína, 2 % grasa, 12 % humedad, 10 % ceniza, 17 % fibra, 44 % ELN Malta-Cleyton) y agua a libre demanda.

Infección con ooquistes de *Eimeria spp.*

Los ooquistes del protozoario (coccidias) se obtuvieron de materia fecal fresca de conejos infectados naturalmente, colectadas de granjas cunícolas de traspatio ubicadas en municipios del Estado de Morelos; se realizaron exámenes coproparasitológicos y se extrajeron los ooquistes de *Eimeria spp* (anexo 2) mediante de una sonda plástica (7 cm) vía oral (Paul-Murphy, 2007). La identificación de los ooquistes se realizó con base a sus características morfológicas, considerando su diámetro longitudinal, ancho y forma (Rodríguez-Vivas *et al.,* 2011) y específica patogenicidad en conejos de producción.

Grupos experimentales

A los 28 días post-infección se realizaron exámenes coproparasitológicos a cada conejo para agruparlos homogéneamente por raza y por carga parasitaria, incluyendo a dos animales de cada raza por grupo. Los 18 conejos se dividieron de la siguiente forma:

Control: solución salina al 0.9 mg/kg en 7 mL (n=6),

P. djamor: 0.08 mg/kg de proteína del extracto acuoso de *P. djamor* (n=6)

Toltrazuril: Toltrazuril 5 mg/kg en 7 mL (n=6),

Extracto de *Pleurotus djamor*

El extracto fue donado por el Laboratorio de Parasitología Vegetal del Centro de Investigaciones Biológicas. El extracto se obtuvo del sobrenadante de la biomasa del micelio de *P. djamor* a 7 días de cultivo a 28° C, la concentración empleada para los conejos fue de 80 µg de proteína por Kg de peso.

Evaluación de la carga parasitaria de ooquistes de *Eimeria spp* en conejos

El seguimiento de la infección se realizó mediante análisis coprológicos en días alternos, con el fin de seguir las fluctuaciones cuantitativas en la eliminación de ooquistes. Los días 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 post- infección se recolectaron 10 gr de heces de cada conejo en bolsas de plástico rotuladas; posteriormente las muestras se procesaron para cuantificar la carga parasitaria de cada animal.

Análisis coproparasitológicos

Se utilizó la técnica de flotación saturada de NaCl, pesando 4 gr de heces en una balanza, añadido a 56 ml de agua y posteriormente la solución salina al 40%, mezclado y filtrado con una gasa, dejando reposar 3-5 min (anexo 2), con el objetivo de cuantificar la carga parasitaria, el conteo de ooquistes determinó cuántos huevos por gramo de heces contenía un animal (Zendejas-Heredia *et al*., 2021). Se observaron los ooquistes con un microscopio con objetivo 10X.

Temperatura

La temperatura se tomó un día por semana desde la infección experimental y durante todo el experimento, la lectura de la temperatura se tomó de manera intraauricular con un termómetro digital.

Glucosa sanguínea

La glucosa se midió mediante un glucómetro (Accu-Chek ®Active), una vez por semana

durante todo el experimento. La muestra se obtuvo de la oreja izquierda, se limpió el área de la vena marginal con algodón y alcohol, con una lanceta se realizó un piquete en la vena, la gota de sangre obtenida se depositó en una tira reactiva la cual se introdujo en el glucómetro (Accu-Chek ®Active), el cual arrojó la lectura con el valor de la glucosa.

Necropsia

Al día 7 post tratamiento se realizó el sacrificio humanitario de los tres grupos de conejos por personal capacitado y experimentado, mediante una dosis letal de pentobarbital sódico (100 mg/kg) vía intracardiaca con previa anestesia con xilacina/ketamina (5 mg/ kg y 35 mg/kg) de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

Obtención de órganos

Cada conejo se colocó en decúbito dorsal, cortando la piel a lo largo de la línea media desde la unión de la mandíbula hasta el recto, levantando la piel con pinzas quirúrgicas, se localizó hígado e intestino (Morales–Briceño *et al.,* 2018), se disectaron y pesaron con una balanza analítica (Mejía *et al.,* 2015).

Descripción de lesiones macroscópicas en órganos

Para el diagnóstico de coccidiosis, se realizaron observaciones en órganos con el objetivo de identificar la ubicación de la lesión (El-Shahawi *et al.*, 2011). Se consideraron y registraron el número de lesiones en la superficie de los hígados e intestinos de animales infectados (Bochyńska *et al*., 2022).

Análisis estadístico

Para las diferencias entre grupos con distribución normal, se realizó un ANOVA. Cuando los grupos no siguieron una distribución normal, se efectuó un análisis Mann-Whitney. Para las variables medidas a través del tiempo, se usó una prueba ANOVA de medidas repetidas. Para el análisis de todas las variables evaluadas se utilizó el programa Graphpad Prism 8.0.1, considerando valores significativos cuando $P<0.05$ (Bate & Clark, 2014).

RESULTADOS

Cuantificación de la carga parasitaria de *Eimeria spp* en conejos domésticos tratados con el extracto acuoso de *Pleurotus djamor*

En la evaluación de la carga parasitaria total de los tres grupos de conejos infectados con *Eimeria spp*, se observó que el grupo *P. djamor* mostró una disminución del 35.4%, (***P<0.0001) versus el grupo control, el grupo toltrazuril mostró una disminución del 55.3% versus el grupo control (***P<0.0001) y *P. djamor* versus toltrazuril (P>0.70, Fig. 14a).

En el análisis a través del tiempo, se observó un efecto significativo en la interacción en el tiempo y tratamiento con *P. djamor* y Toltrazuril (**P<0.008), se observó un efecto significativo entre los tratamientos *P. djamor* y Toltrazuril (****P<0.0001), sin embargo, no se encontró significancia a través del tiempo cuando se consideraron los tres grupos de conejos infectados (P>0.16, Fig. 14b).

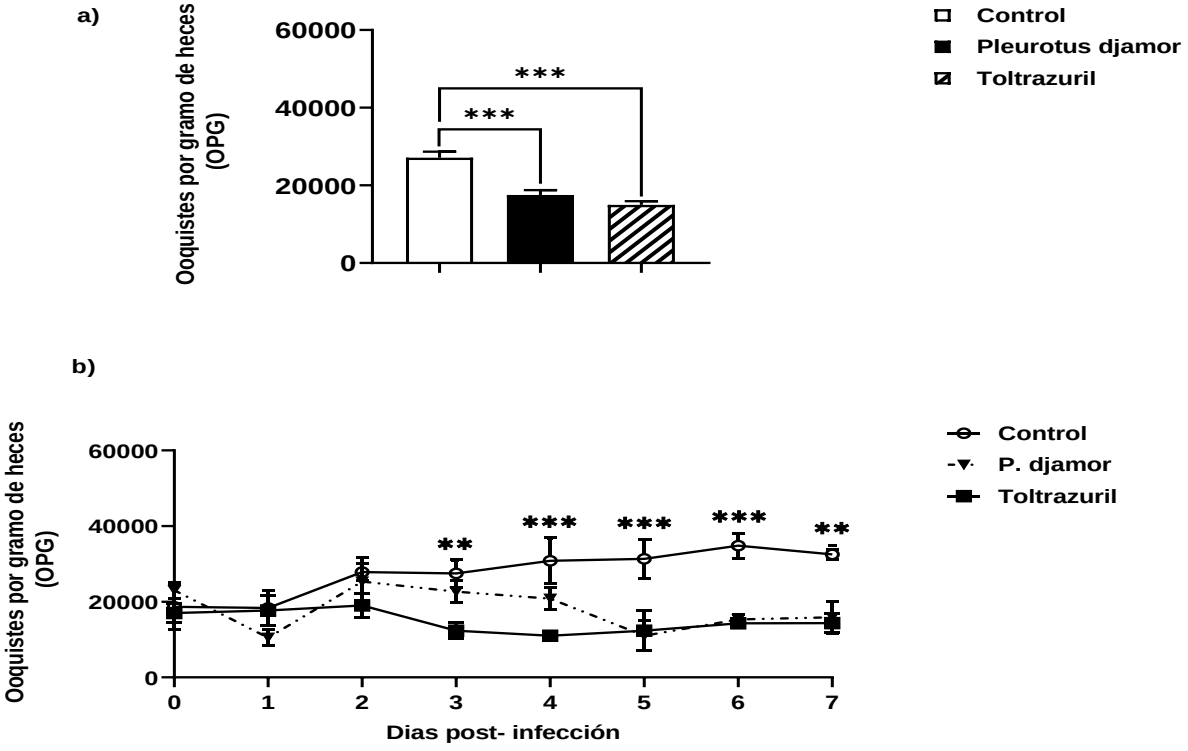


Figura 14. (a) Análisis del total de ooquistes en conejos infectados con *Eimeria spp* al post-

tratamiento; Prueba de Kruskal-Wallis, (***P<0.0001) control vs *P. djamor*; media± EE; (***P<0.0001) control vs toltrazuril, media±EE; (b) Análisis a través del tiempo; (**P=≤0.008, P<0.1667, ****P<0.0001), ANOVA de medidas repetidas; media±EE

Evaluación de peso corporal, glucosa y temperatura

En el peso corporal total de los tres grupos de conejos adultos infectados con *Eimeria spp,* no se observaron diferencias entre grupos. En el grupo *P. djamor* se observó una tendencia a disminuir (P>0.38, Fig. 15a). En el análisis a través del tiempo, no se observó diferencias significativas en la interacción de tiempo y grupos (P>0. 41, P>0.68, P>0.14, Fig. 15b).

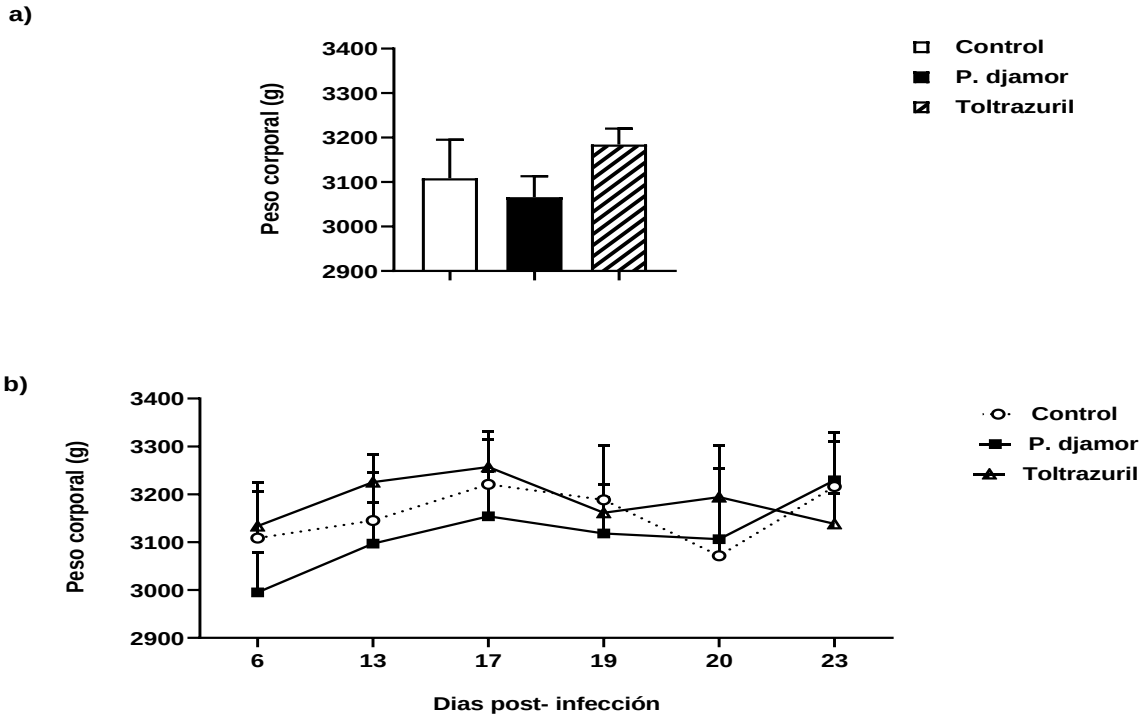


Figura 15. (a) Análisis del peso corporal en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.38); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE; (b) Análisis del peso corporal a través del tiempo en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.41, P>0.68, P>0.14); ANOVA de medidas repetidas; media±EE.

En los niveles de glucosa sanguínea registrada en conejos infectados con *Eimeria spp* no presentó cambios entre grupos (P>0.72, Fig. 16a); en el grupo Toltrazuril se observa una tendencia a la alta. De igual manera, en el análisis a través del tiempo no se observaron cambios en el efecto interacción, efecto tiempo y entre grupos (P>0.99, P>0.99, P>0.99, Fig. 16b).

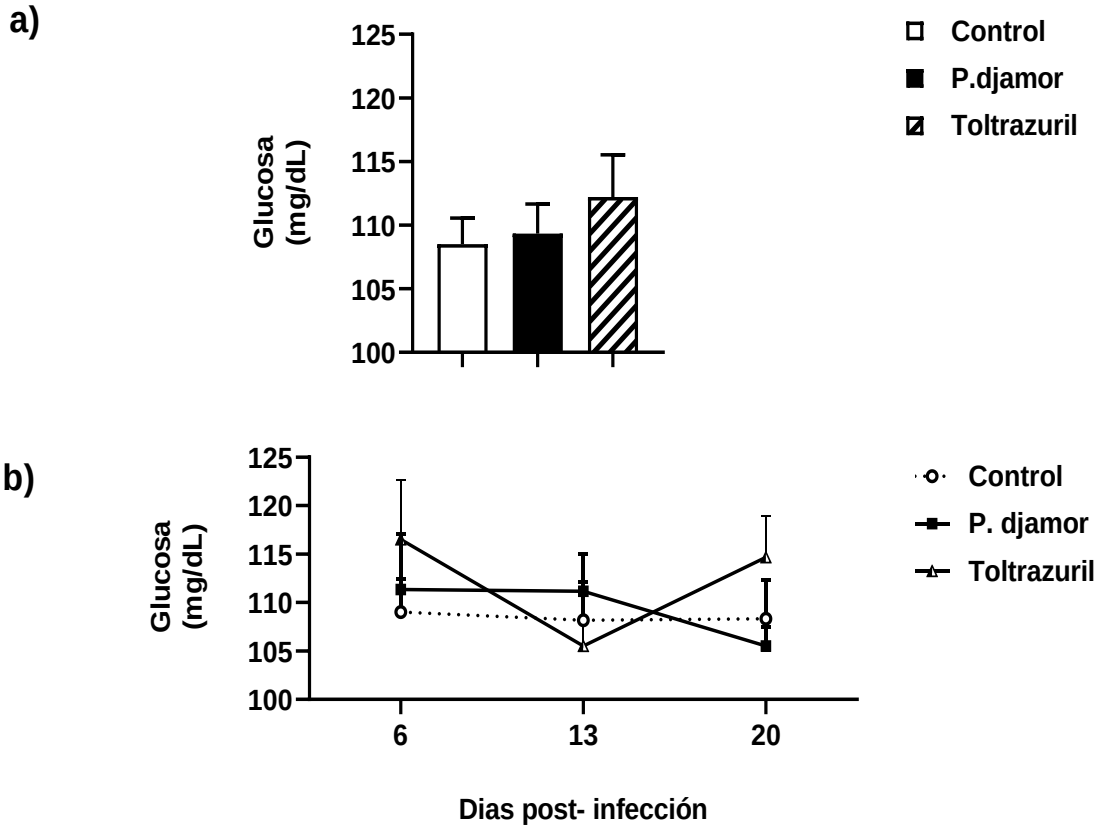


Figura 16. (a) Glucosa sanguínea en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.72), ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE; (b) Glucosa sanguínea a través del tiempo en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.99, P>0.99, P>0.99,); ANOVA de medidas repetidas; media±EE

Con relación a la temperatura corporal, no se observan cambios entre grupos (P>0.51, Fig. 17a). En la gráfica a través del tiempo, no se mostró diferencias significativas en el efecto interacción, efecto tiempo (P>0.99, P>0.99, P>0.99, Fig. 17b).

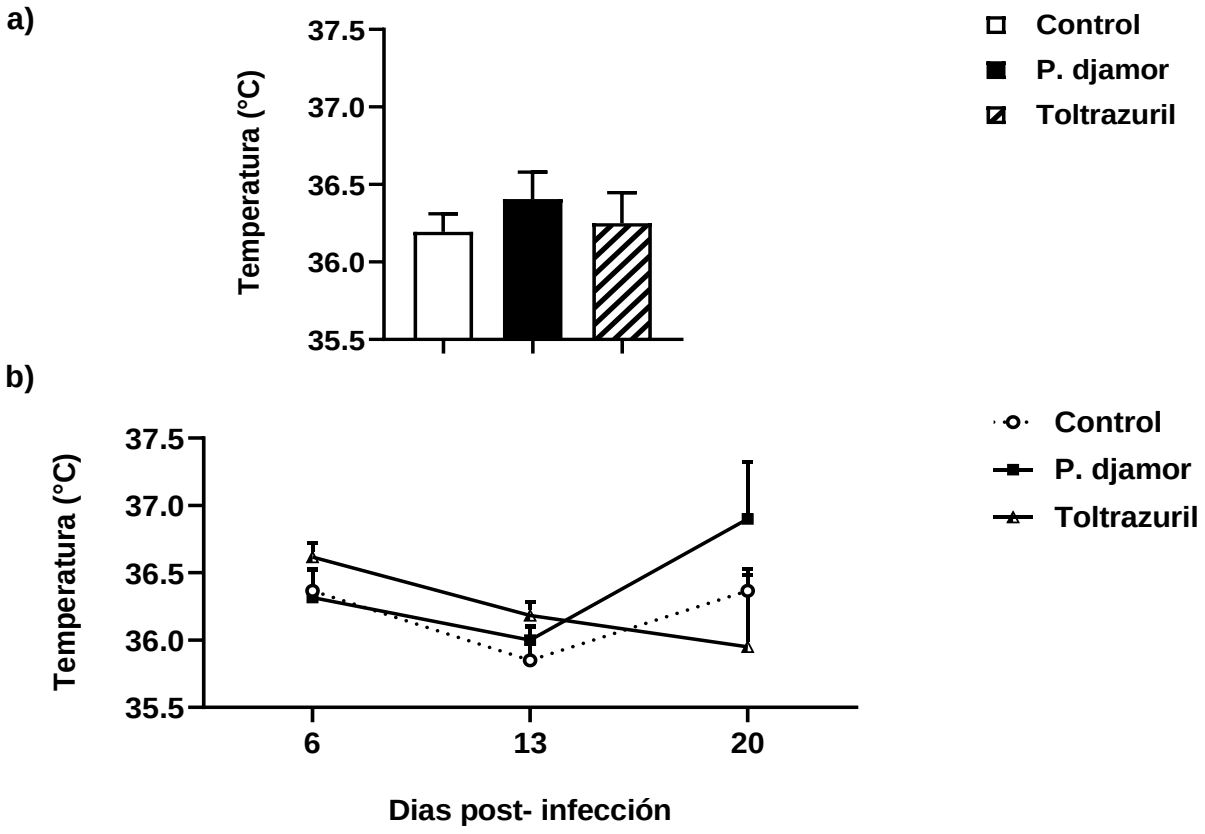


Figura 17. (a) Análisis de temperatura corporal en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.51) ANOVA de múltiples comparaciones; (b) Análisis de temperatura a través del tiempo en conejos infectados con *Eimeria spp*; (P>0.99, P>0.99, P>0.99); ANOVA de medidas repetidas;media±EE.

Evaluación del peso de órganos (hígado e intestinos) de conejos domésticos infectados con *Eimeria* spp

Referente al peso de los órganos infectados con *Eimeria* spp al día del sacrificio, se observó que los tres grupos presentaron similitud en el peso hepático (P>0.75, Fig. 18a) y en el peso de los intestinos (P>0.77, Fig. 18b).

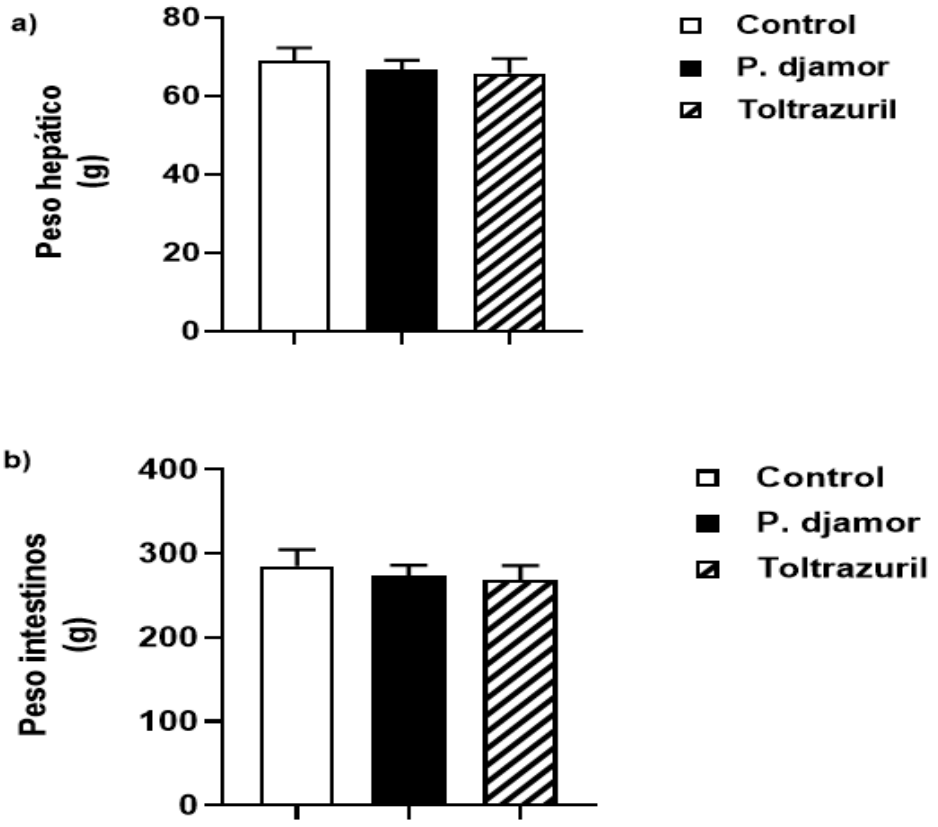


Figura 18. a) Análisis del peso de hígado en conejos infectados con *Eimeria spp* al postratamiento; ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE; (P>0.75); (b) Análisis del peso de los intestinos en conejos infectados con *Eimeria spp* al postratamiento; (P>0.77; ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE.

Lesiones hepáticas macroscópicas

En el análisis del número total de lesiones macroscópicas en hígado, se observó que el grupo *P. djamor* tuvo una disminución del 74.2% en el número de las lesiones macroscópicas en comparación con el grupo toltrazuril (**P<0.003, Fig. 19a).

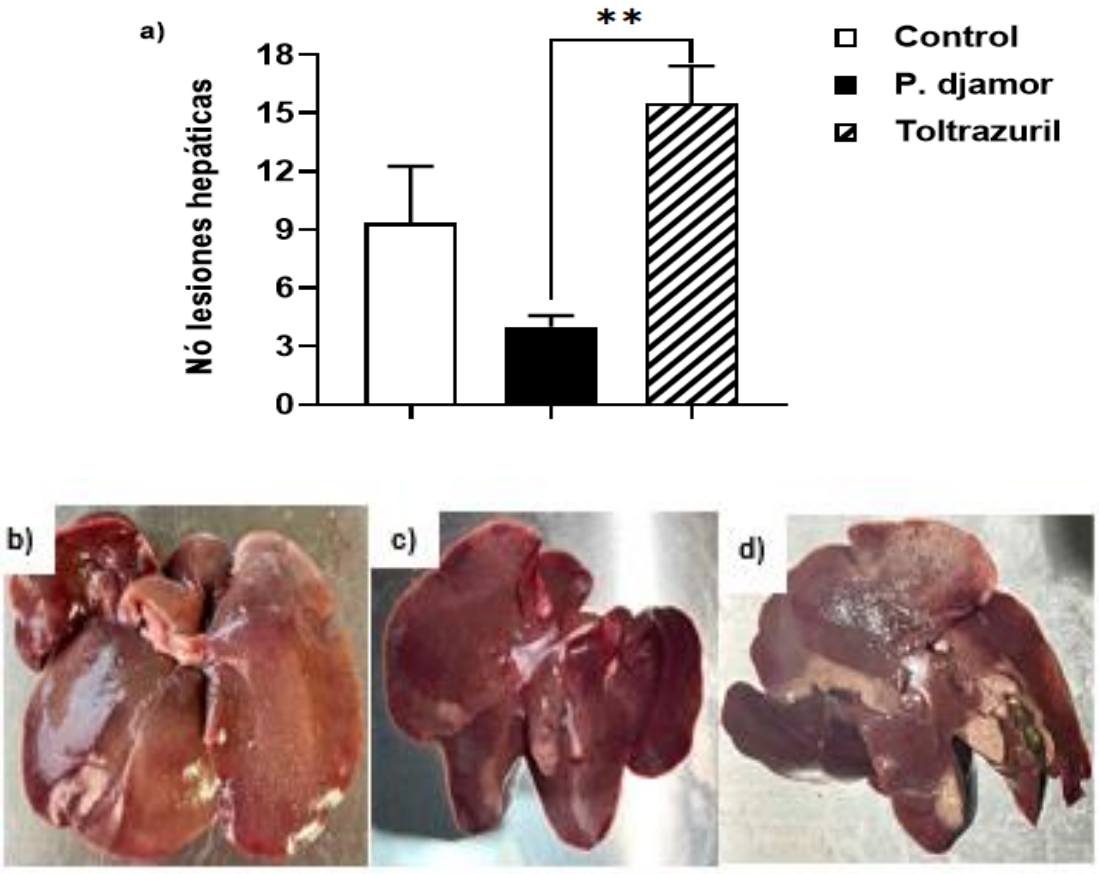


Figura 19. Cuantificación de lesiones hepáticas macroscópicas de conejos infectados con *Eimeria spp* al día 7 postratamiento (a); (**P<0.003); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE. Imagen representativa de lesiones hepáticas (b) grupo control, (c) grupo *P. djamor* (d) grupo toltrazuril.

Lesiones intestinales macroscópicas en intestino

En relación con las lesiones macroscópicas en el tercer tercio del intestino se observó una disminución del 84.58 % de lesiones en el grupo tratado con *P. djamor* en comparación con el grupo control (*P<0.03, Fig.20). En el grupo tratado con Toltrazuril se observó una tendencia a la disminución en el número de lesiones intestinales.

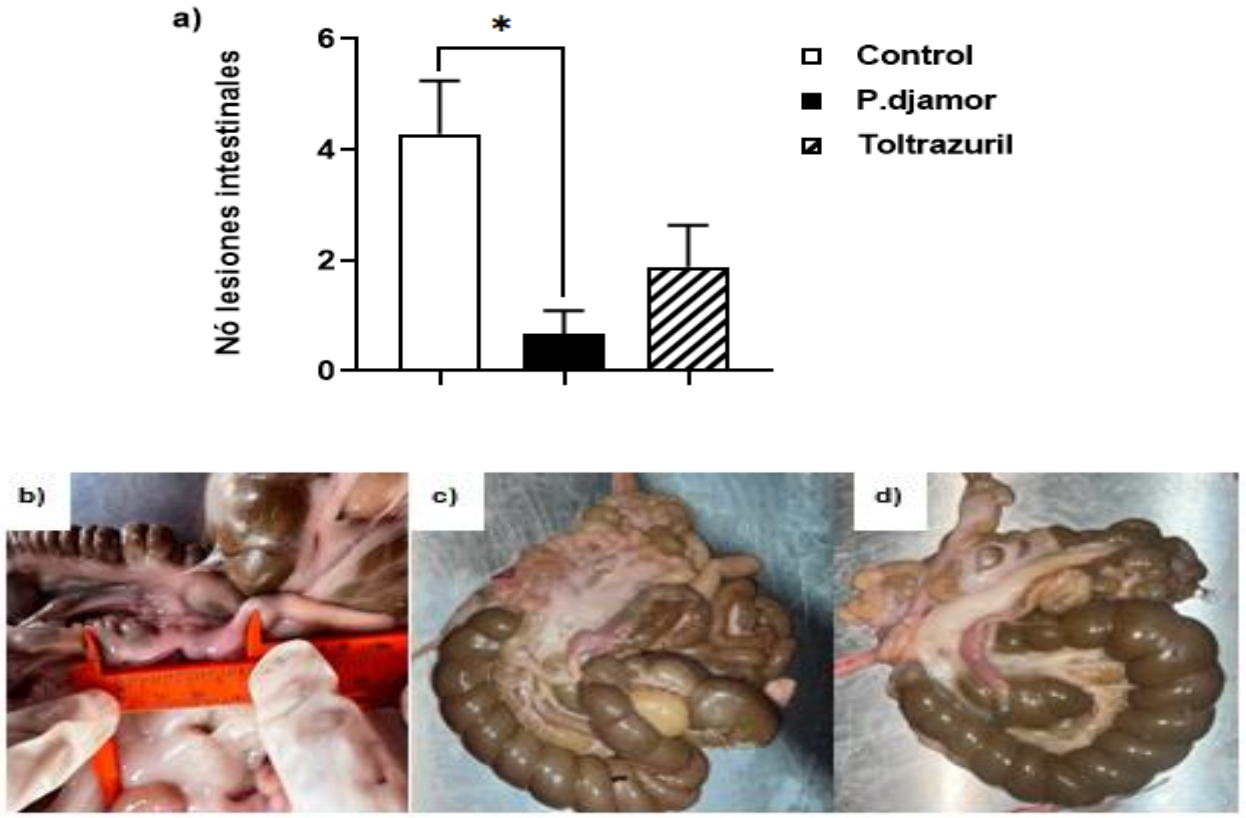


Figura 20. a) Lesiones intestinales macroscópicas en conejos infectados con Eimeria spp al día 7 postratamiento; (*P<0.03); ANOVA de múltiples comparaciones; media±EE. Imagen representativa de lesiones en intestino (b) grupo control, (c) grupo *P. djamor* (d) grupo toltrazuril.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó que una monodosis de extracto acuoso del hongo *Pleurotus djamor* logró disminuir un 34.4% la carga parasitaria en conejos adultos infectados experimentalmente. Estos resultados coinciden parcialmente con González–Cortázar *et al*, (2020) en jerbos (*Meriones ungiculatus*) infectados, mostrando una reducción de larvas *Haemonchus contortus* de 92.56 % usando un extracto hidroalcohólico de *P. djamor,* asimismo, en experimentos *in vitro* referidos por Pineda–Alegría *et al.* (2017) y Colmenares–Cruz *et al*. (2021) plantean al hongo *Pleurotus djamor* como nematicida, mencionando diferentes concentraciones y carga parasitaria. Sin embargo, en trabajos futuros se deberían analizar los efectos de los extractos acuosos aunado a determinar el efecto coccidicida o coccidiostáticos de compuestos aislados provenientes de *P. djamor* para la prevención, control y el tratamiento de coccidiosis en granjas de conejos, lo que en su conjunto representaría una opción viable que permitiese reducir o sustituir el empleo de fármacos tradicionales, como son los ionóforos de calcio y las sulfas entre otros, con el propósito de evitar resistencia, además de poder ser utilizados en los casos en los que ya exista.

Es necesario destacar que durante el experimento no se observaron signos clínicos de toxicidad, ni alteraciones en temperatura, glucosa ni peso corporal. La glucemia y temperatura analizados en este trabajo coinciden con Arias-Hernández *et al*., 2017 que durante la infección con *T. pisiformis* reportó que los niveles de glucosa se mantuvieron constante entre los grupos experimentales, manteniéndolos dentro del rango de valores normales 75-155 mg/dL (Melillo, 2007).

Por ende, el hongo comestible *P. djamor* posee ventajas sobre un medicamento anti desparasitante, mencionando en primer lugar que es un organismo natural, que se cultiva ampliamente en diversos países, económicamente accesible, aprovechando todos los beneficios nutricionales que provee este hongo. Además de su sabor, textura y los beneficios a la salud, no se encontraron reportes de toxicidad en animales y humanos. También se

observó que el hongo *P. djamor* tuvo una eficacia similar a toltrazuril consistente en la eliminación del 34% de los ooquistes de *Eimeria spp* en conejos infectados. En consecuencia, *P. djamor* puede ser descrito como un hongo nutracéutico por la naturaleza química de los compuestos bioactivos como polisacáridos, lipopolisacáridos, proteínas, péptidos, glicoproteínas, nucleósidos, triterpenoides, lectinas, lípidos y sus derivados (Patel *et al.,* 2012). Uno de los componentes más importantes que presentan los hongos del género *Pleurotus* son los β-glucanos, polisacáridos compuestos por una secuencia de moléculas de glucosa estimuladoras del sistema inmunitario (Carbonero *et al.,* 2006), por lo que el probable mecanismo antiparasitario es a través de la activación de leucocitos, que producen mediadores inflamatorios TNF-α, modulando el sistema inmune del hospedero. De este modo el mecanismo de acción de *P. djamor* podría involucrar una fase indirecta en la que existe un efecto inmunoestimulante por parte de *P. djamor*; futuros estudios serán necesarios para confirmar el mecanismo de acción propuesto.

En el presente estudio no se midieron los niveles de anticuerpos, además de que los animales empleados al ser adultos fueron asintomáticos a la infección por *Eimeria spp*, ya que está previamente documentado que en conejos adultos la infección con *Eimeria* cursa de manera asintomática y además fungen como reservorios en la dinámica de transmisión de la enfermedad. Reiterando, la coccidiosis es una enfermedad parasitaria peligrosa y frecuente en animales jóvenes recién destetados, y existe una asociación microbiana que da lugar a infecciones secundarias, siendo más vulnerable a la invasión intestinal ya que la flora intestinal es alcalina a esta edad, mientras que en conejos adultos se presenta una mayor susceptibilidad predominando flora ácida, inhibiendo el medio de desarrollo de las coccidias (Golikov, 1938).

Tomando en cuenta lo anterior se propone como perspectiva evaluar los extractos de *P. djamor* en conejos jóvenes con una edad de 21-30 días al destete ya que a esta edad son

incapaces de controlar las etapas sexuales del parásito, además del que su sistema digestivo no está completamente desarrollado (Samoggia, 1979).

Vale resaltar que dependiendo de la especie patógena de *Eimeria* y la cantidad de ooquistes en el hospedador, podría o no desarrollar signos propios de la infección, de acuerdo con Coudert *et al*. (1993), la aparición de diarrea puede ser irregular, enfatizando que la capacidad de multiplicación de *Eimeria spp* no es un criterio para el diagnóstico clínico de la enfermedad, por ello el contenido de elevadas tasas de ooquistes en las heces no condiciona necesariamente la presencia de una enfermedad, sino basarse en síntomas, lesiones y análisis para hacer un diagnóstico más integral(Respaldiza-Cardeñosa & González-Hidalgo, 1984).

Acerca de las lesiones macroscópicas en órganos, el grupo tratado con *P. djamor* en comparación con el grupo tratado con el fármaco toltrazuril mostró una disminución del 74.2% en las lesiones hepáticas versus toltrazuril, presentando características en el color de la superficie del hígado y áreas blanquecinas, siendo ésta una característica de la presencia de *Eimeria stiedae.* De acuerdo con Cam *et al.* (2008), conejos infectados con *E. stidae* presentaron nódulos amarillentos y blanquecinos en la superficie del hígado, indicando que además de las lesiones características, la ubicación anatómica de esta especie es precisa en los conejos infectados.

Aluja (1994) realizó una descripción sobre las características en la superficie de hígados en cerdos para la inspección sanitaria de carne, donde se atribuyeron principalmente a la migración de larvas de nematodos *Ascaris suum*, al igual que Gutiérrez (2003) que reportó que en la superficie del hígados de conejos infectados se presentaron nódulos blancos que van desde 1 a 3 mm de diámetro.

También se observó un 84.58% de disminución de lesiones en intestino de conejos tratados con *Eimeria spp* versus el grupo control. Peters *et al.* (1984) refieren las lesiones en conejos infectados con *Eimeria intestinalis*, sin embargo, para un estudio más profundo, además de

microscopía óptica utilizaron microscopía electrónica mostrando que estas lesiones afectaron las vellosidades ileales cambiando su apariencia (NIH, 2024). Específicamente en el caso de infecciones por coccidiosis es importante mencionar que los estudios *post mortem* sirven para describir la coloración, el tamaño y la ubicación anatómica de una lesión ya que dependiendo de la ubicación se podría estimar la especie del género *Eimeria*. Bochynska, (2022) describe que la localización de lesiones en órganos como intestino, hígado y conductos biliares ha sido de suma importancia para identificar la especie parásita y propone describir las lesiones como leves y moderadas en el epitelio hepático.

Las disminuciones de las lesiones macroscópicas en el grupo tratado con *Pleurotus djamor* podrían estar relacionadas con la actividad inhibidora contra el estrés oxidativo ya que se ha reportado que hongos de este género tienen un mecanismo protector. En este estudio se infiere que la concentración y la dosificación múltiple del micelio crudo de *Pleurotus djamor* pudo ser un factor como una perspectiva del estudio, evaluando el efecto neto del hongo directamente en la dieta, así como otras estructuras de este como el cuerpo fructífero que disminuyeron la cantidad de ooquistes en conejos infectados. Ya que en estudios fitoquímicos recientes del hongo *Pleurotus* en otras especies como *P. tuber-regium* se ha revelado en extracto crudo la presencia de alcaloides, glucósidos, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, esteroides, carbohidratos, flavonoides y terpenoide, sin signos físicos de toxicidad ni muerte, ni aumento en los niveles séricos, aumentando glóbulos blancos en ratones (Edoh *et al.,* 2022).

CONCLUSIONES

Una monodosis del extracto acuoso del hongo comestible *Pleurotus djamor* disminuyó el número de ooquistes del género *Eimeria* en conejos domésticos *Oryctolagus cuniculus*, por lo que se contempla como un hongo con potencial terapéutico con acción desparasitante en contra de la eimeriosis del conejo doméstico, considerándose una alternativa desparasitante natural. Además, no se observaron efectos secundarios sobre peso, temperatura y glucosa, ni alguna otra manifestación clínica, considerando hasta el momento a *P. djamor* como inocuo para el conejo.

BIBLIOGRAFÍA

Asaba J, Bandyopadhyay M, Kindy M, Dasgupta S. 2015. Estrogen receptor signal in regulation of B cell activation during diverse immune responses. Int J Biochem Cell Biol. 2015 Nov;68:42-7. doi: 10.1016/j.biocel.2015.08.012. Epub 2015 Aug 20. PMID: 26299327.

Asselin E, Xiao CW, Wang YF, Tsang BK. Mammalian follicular development and atresia: role of apoptosis. Biol Signals Recept. 2000 Mar-Apr;9(2):87-95. doi: 10.1159/000014627. PMID: 10810203.

Arias-Hernández D, García-Jiménez S, Domínguez-Roldan R, Murcia-Mejía C, Báez-Saldaña A, Hallal-Calleros C, Flores-Pérez I. 2010. Effects of Taenia Pisiformis Infection and Obesity on Clinical Parameters, Organometry and Fat Distribution in Male Rabbits. Pathogens. Oct 22;9(11):861. doi: 10.3390/pathogens9110861. PMID: 33105538; PMCID: PMC7690263.

Ademola, I.O, Ojo, P.O, Odeniran, P.O. 2018 Pleurotus ostreatus extract inhibits Eimeria species development in naturally infected broiler chickens. Trop Anim Health Prod. 2019 Jan;51(1):109-117. doi: 10.1007/s11250-018-1665-9. Epub 2018 Jul 14. PMID: 30008132.

Abbott. ©2019. Alinity i. Estradiol Reagent Kit Abbott Park, Illinois, EE. UU.

Arias- Álvarez, M., García- García, R.M, Rebollar, P.G, Lorenzo, P.L. 2007. Desarrollo folicular en la coneja. M. Arias-Álvarez *et al.* ITEA (2007), Vol. 103 (4), 173-185.

Arias Hernández, D., Flores-Pérez, F.I., Domínguez R.R., Báez, S.A., Carreón, R.A., García, J.S., Hallal, C.C.2019. Influence of the interaction between cysticercosis and obesity on rabbit behavior and productive parameters. Vet Parasitol. 276:108964.

Bate, S.T., Clark, R.A. 2014. The design and statistical analysis of animal experiments. Cambridge University. ISBN 978-1-107-03078-7.

Bates, P.G. 1999. Inter and intra specific variarían within the genus Psoroptes (Acari: Psoroptidae). Veterinary Parasitology. School of Biological Sciences, University College of North Wales, College Road, Bangor, Gwynedd LL57 2DG, UK.

Beyer, C., Moralí, G. 1992. Motor aspects of masculine sexual behavior in rats and rabbits,

advances in the study of behavior.

Bochyńska D, Lloyd S, Restif O, Hughes K. *Eimeria stiedae* causes most of the white-spotted liver lesions in wild European rabbits in Cambridgeshire, United Kingdom. J Vet Diagn Invest. 2022 Mar;34(2):199-205. doi: 10.1177/10406387211066923. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35073810; PMCID: PMC8915231.

Bohn, S.J, Webber, Q.M.R, Florko, K.R.N, Paslawski, K.R, Peterson, A. M, Piche, J.E, Menzies, A. K, Willis, CKR. 2017. "La personalidad predice la abundancia de ectoparásitos en un esciúridos asocial" . Etología . 2017 ; 123 : 761 – 771 . https://doi.org/10.1111/eth.12651

Bruyndonckx,. Henry, I., Christie, P., & Kerth, G. 2009. Spatio-temporal population genetic structure of the parasitic miteSpinturnix bechsteiniis shaped by its own demography and the social system of its bat host. Molecular Ecology, 18(17), 3581– 3592. doi:10.1111/j.1365-294x.2009.04299.x

Çam. Y, Atasever. A, Eraslan. G, Murat, Kibar. M, Atalay. Ö, Beyaz. L, İnci. A, BilaL,Liman.B.C. 2008. Eimeria stiedae: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. Experimental Parasitology Volume 119, Issue 1, May 2008, Pages 164-172 https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.01.005

Cervantes-Rebolledo. C, Carrero-Sánchez. J.C. 2008. Hormonas y la susceptibilidad a las infecciones parasitarias. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, D.F. 04510. México.

Clay, A. Patrick., Volker, H.W. Rudolf. 2019. How parasite interaction strategies alter virulence evolution in multi-parasite communities. Rice University, Houston, Texas. doi:10.1111/evo.13843

Coudert P, Licois D, Provôt F, Drouet-Viard F. Eimeria sp. from the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): pathogenicity and immunogenicity of Eimeria intestinalis. Parasitol Res. 1993;79(3):186-90. doi: 10.1007/BF00931890. PMID: 8493241.

De Aluja Aline. S. 1994. “Manchas de leche” (Milk spots) por metacestodos de Taenia solium en hígados de cerdo. Vet. México, 25 (2).

Domínguez Roldan, R. 2019. Aspectos de dimorfismo sexual reproductivos e histológicos

asociados a Teniasis (*Taenia pisiformis*) cisticercosis en dos especies de lagomorfos y en el hámster dorado. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Tesis de Doctorado en Ciencias Agropecuarias.

Dunlap, K. D., & Schall, J. J. 1995. Hormonal Alterations and Reproductive Inhibition in Male Fence Lizards (*Sceloporus occidentalis*) Infected with the Malarial Parasite Plasmodium mexicanum. Physiological Zoology, 68(4), 608–621. doi:10.1086/physzool.68.4.30166347. 10.1086/physzool.68.4.30166347

Dunstand, G. E., Peña-Chora. G., Hallal, C.C., Pérez, M.M.,Hernández-V. V.M., Morales, M. J., Flores, P.F.I. 2015. Acaricidal effect and histological damage induced by Bacillus thuringiensis protein extracts on the mite Psoroptes cuniculi. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Parasites & Vectors DOI 10.1186/s13071-015-0890-6.

Edoh, S.P, Sani. D, Mbah, C.E, Yusuf. H, Jolayemi, K. O, Ibrahim, M.K. 2022. Evaluation of the toxicity of crude aqueous Pleurotus tuber-regium (Fr.) Singer extract in mice. J Complement Integr Med. 2022 Dec 1;20(1):106-111. doi: 10.1515/jcim-2022-0306. PMID: 36450279.

El-Shahawi, G.A, El-Fayomi, H.M, Abdel-Haleem, H.M. 2011. Coccidiosis of domestic rabbit (Oryctolagus cuniculus) in Egypt: light microscopy study. Zoology Department, Faculty of Science, Beni-Suef University, Beni-Suef, Egypt. Parasitol Res (2012) 110:251–258 DOI 10.1007/s00436-011-2479-0

Espinoza-Carniglia M., Pérez-Leiva., A., Silva-de la Fuente. M.C., Victoriano-Sepúlveda., P., Moreno-Salas. L.2015. Abundance and distribution of parasitic mites (Eutrombicula araucanensis and Pterygosoma sp.) on lizards (Liolaemus pictus) of central Chile. Revista Mexicana de Biodiversidad. 87 (2016) 101–108.

Faccio L, Da Silva AS, Tonin AA, França RT, Gressler LT, Copetti MM, Oliveira CB, Sangoi MB, Moresco RN, Bottari NB, Duarte MM, Monteiro SG. Serum levels of LH, FSH, estradiol and progesterone in female rats experimentally infected by Trypanosoma evansi. Exp Parasitol. 2013 Sep;135(1):110-5. doi: 10.1016/j.exppara.2013.06.008. Epub 2013 Jun 28. PMID: 23816642.

Festing, M. F. W., & Nevalainen, T. 2014. The Design and Statistical Analysis of Animal Experiments: Introduction to this Issue. ILAR Journal, 55(3), 379–382. doi:10.1093/ilar/ilu046.

Fisher, F. M .1963. Producción de sustancias endocrinas huésped por parásitos. Ann N Y Acad Sci 113: 63–87.

Fleming, M. W. 1985. Steroidal enhancement of growth in parasitic larvae ofAscaris suum: Validation of a bioassay. Journal of Experimental Zoology, 233(2), 229–233. doi:10.1002/jez.1402330209. 10.1002/jez.1402330209

Flores, F. I., Vázquez, R., Aguirre, V., Orihuela, A. (2005). El comportamiento animal como escudo para evitar la enfermedad y remedio hacia la salud (algunas bases fisiológicas). Avances en Investigación Agropecuaria. ISSN: 0188-7890.

Freitas, F.L, Yamamoto, B.L, Freitas, W.L, Fagliari, J.J, Almeida, K de S, Machado, R.Z, Machado, C.R. 2011. Systemic inflammatory response indicators in rabbits (Oryctolagus cuniculus) experimentally infected with sporulated oocysts of Eimeria stiedai (Apicomplexa: Eimeriidae). Rev Bras Parasitol Vet. 2011 Apr-Jun;20(2):121-6. doi: 10.1590/s1984-29612011000200006. PMID: 21722486.

Ghosh. S., Klein. R.S. 2017. Sex Drives Dimorphic Immune Responses to Viral Infection s.J Immunol 198 (5) 1782-1790; DOI: https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601166.

Gómez de León, C.T., Ostoa- Saloma, P., Segovia- Mendoza, M., Del Río. Araiza., Morales-Montor, J. 2021. Parasitología ambiental y su impacto en la red neuroinmunoendocrina del huésped. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Gonzáles Chávez, M. F. 2021. Cambios conductuales y productivos inducidos por la infección experimental con *Psoroptes cuniculi* en conejos machos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Gonzáles-Mariscal, G. Melo, A.L., Zabala, A., Beyer. C. 1992. Chin marking behavior in male and female new zealand rabbits; onset, development and activation by Serie técnica 216. ISSN: 1688-

9266. Pág. 157-161.

Gonzáles- Mariscal, G., Melo, A.L., Chirino, R., Beyer, C. 1994. Sex steroid regulation of chin marking behavior in male new zealand. Physiol Behav. Vol 54. Pág.: 1035-1040.

Hallal-Calleros, C., Morales-Montor, J., Vázquez-Montiel, JA. 2013. Cambios hormonales y de comportamiento inducidos por la infestación experimental aguda y crónica con *Psoroptes cuniculi* en el conejo doméstico *Oryctolagus cuniculus.* Vectores de parásitos 6, 361. https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-361.

Hernández-Aragón LG, García-Villamar V, Carrasco-Ruiz ML, Nicolás-Toledo L, Ortega A, Cuevas-Romero E, Martínez-Gómez M, Castelán F. Role of Estrogens in the Size of Neuronal Somata of Paravaginal Ganglia in Ovariectomized Rabbits. Biomed Res Int. 2017;2017:2089645. doi: 10.1155/2017/2089645. Epub 2017 Feb 21. PMID: 28316975; PMCID: PMC5339489.

Hernández-Bello, R., Ramirez-Nieto, R., Muñiz-Hernández, S., Nava-Castro, K., Pavón, L., Sánchez-Acosta, A. G., & Morales-Montor, J. 2011. Sex Steroids Effects on the Molting Process of the Helminth Human Parasite*Trichinella spiralis*. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2011, 1–10. doi:10.1155/2011/625380.

Hernández-Cervantes, R., Sánchez-Acosta, A.G., Ramírez-Nieto, R., Morales- Montor, J. 2010. Regulación Neuroendocrinología de la función inmunitaria: el papel de la hipófisis y los esteroides sexuales. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70228, México, D.F.

Hudson, R.1990. Chin marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated, ovariectomized rabbits. Hormones and Behavior, 24(1), 1–13. doi:10.1016/0018-506x(90)90022-p 10.1016/0018-506x(90)90022-p

INIFAP, 2022. Manuales Prácticos para la Elaboración de Bioinsumos. 10. Elaboración de extractos vegetales. Estrategia de acompañamiento técnico.

Jeffey R. J. 2001. Skin Disorders of the Rabbit Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. Volume 4, Issue 2, Pages 543-563. https://doi.org/10.1016/S1094-9194(17)30042-7.

Kao, T. L., Kuan, Y. P., Cheng, W. C., Chang, W. C., Jeng, L. B., Yeh, S., & Ma, W. L. 2018. Estrogen receptors orchestrate cell growth and differentiation to facilitate liver regeneration. Theranostics, 8(10), 2672–2682. https://doi.org/10.7150/thno.23624

Klein, S.L. 2000. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 24 (2000) 627- 638.

Kranzfelder, D., Korr, H., Mestwerdt, W. 1984. Crecimiento de folículos en el ovario del conejo después de la aplicación de gonadotropina coriónica humana para inducir la ovulación. Res. de tejido celular. 238, 611–620. https://doi.org/10.1007/BF00219879

Künzel F, Joachim A. 2010. Encephalitozoonosis in rabbits. Parasitol Res. Jan;106(2):299-309. doi: 10.1007/s00436-009-1679-3. Epub 2009 Nov 17. PMID: 19921257

Lagrue. Clément, Poulin. Robert. 2009. Parásitos manipuladores en el mundo de la ciencia veterinaria: Implicaciones para la epidemiología y la patología. Departamento de zoología, Universidad de Otago, P.O. Box 56, Dunedin 9054, Nueva Zelanda.

Lazcano-Torres, G., Ángeles-Hernández, S., Ojeda-Ramírez, D., Mendoza-De Gives, P., & Peláez-Acero, A. (2015). Identificación taxonómica del hongo nematófago Arthrobotrys oligospora aislado en Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP, 1(2).

Lima GA, Barbosa BFS, Araujo RGAC, Polidoro BR, Polycarpo GV, Zied DC, Biller JD, Ventura G, Modesto IM, Madeira AMBN, Cruz-Polycarpo VC. Agaricus subrufescens and Pleurotus ostreatus mushrooms as alternative additives to antibiotics in diets for broilers challenged with Eimeria spp. Br Poult Sci. 2021 Apr;62(2):251-260. doi: 10.1080/00071668.2020.1837344. Epub 2020 Dec 14. PMID: 33064014.

Macías-Fonseca, M.E, Herrera-Haro. J.G, Martinez. A, Ortega-Cerrilla, M.E, Ruiz- Sesma. B. 2021. Productive performance and carcass characteristics of new zealand White and california rabbits and their crosses. Agro productivity. 14. https://doi.org.10.32854/agrop.v1416.1916.

Mary K. Smith, Diane L. Buhr, Thabani A. Dhlakama, Diana Dupraw, Steve Fitz-Coy, Alexandra Francisco, Arjun Ganesan, Sue Ann Hubbard, Andrew Nederlof, Linnea J. Newman, Matthew R.

Stoner, June Teichmann, John C. Voyta, Robert Wooster, Alla Zeygerman, Matthew F. Zwilling, Margaret M. Kiss. 2023. Automated enumeration of Eimeria oocysts in feces for rapid coccidiosis monitoring, Poultry Science. Volumen 102.ISSN 0032-5791. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102252.

Mauvais-Jarvis, F., Bairey Merz, N., J Barnes, Peter., D Brinton, R., Carrero, J.J., L DeMeo, D., J De Vries, G., Neill Epperson, C., Govindan, R., L Klein, S., Lonardo, A., Maki, P., D McCullough, L., Regitz-Zagrosek, V., G Regensteiner, J., Rubin, J., Sandberg, K., Suzuki, A. 2020. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine. The Lancet. Volume 396, Issue 10250. ISSN 0140-6736. Pages 565-582. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31561-0.

MedlinePlus en español [Internet]. Phillips, M.M. (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.); [actualizado 31 oct. 2022; consulta 11 oct 2023]. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/9396.htm

Melillo, A. 2007. Rabbit Clinical Pathology, Topics in Medicine and Surgery. Journal of Exotic Pet Medicine, Vol 16, No 3 (July), 2007: Pág.135-145.

Melo, A., Gonzáles- Mariscal, G. 2010. Communication by olfactory signals in rabbits. It 's role in reproduction.

Ming-Hsien L, Hai-I H, Hong-Kean O. Prevalence, infectivity and oocyst sporulation time of rabbit-coccidia in Taiwan. Trop Biomed. 2010 Dec;27(3):424-9. PMID: 21399582.

Moctezuma Viera, K. R., & Linares Márquez, P. (2020). Utilización de animales en la investigación biomédica y médica: Un estudio preliminar. Revista Iberoamericana De Bioética, (12), 01–19. https://doi.org/10.14422/rib.i12.y2020.011

Morales- Briceño, A, Molin, M, Brito y Moreno, Méndez Briñez.O, Alvarez Duarte, M, Esteve, C, Moya Acosta. 2018. Técnicas de necropsia y toma de muestras en animales de experimentación: Una revisión bibliográfica y actualización. Rev. Inst. Nac. Hig. “Rafael Rangel”, Revisiones. 49 (2).

Morales-Montor, J., Baig, S., Hallal-Calleros, C., & Damian, R. T. (2002). Taenia crassiceps: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. Experimental

Parasitology, 100(4), 209–216. doi:10.1016/s0014- 4894(02)00028-0. 10.1016/s0014-4894(02)00028-0

Morgan, M.A, Pfaff, D.W. 2021. Effects of Estrogen on Activity and Fear-Related Behaviors in Mice. Hormones and Behavior Volume 40, Issue 4, Pages 472-482.

Muñoz- Cruz, S., Togno-Pierce, C., Morales- Montor, J. 2011. Efectos no reproductivos de los esteroides sexuales: su papel inmunoregulador. Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. Instituto Mexicano del Seguro Social. Departamento de Inmunología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Nasir JA, Chand N, Naz S, Alhidary IA, Khan RU, Batool S, Zelai NT, Pugliese G, Tufarelli V, Losacco C. 2023. Dietary Oyster Mushroom (Pleurotus ostreatus) Waste Inhibits Experimentally Induced Eimeria tenella Challenge in Japanese Quails Model. Animals (Basel). 2023 nov 4;13(21):3421. doi: 10.3390/ani13213421. PMID: 37958176; PMCID: PMC10650477.

National Cancer Institute. 2024. Intestinal villi. https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/intestinal-villi

Olivero. R. 1998. Comportamiento del conejo. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Hoja de divulgación; 70. Producción animal. Cunicultura.

Onal, B., Levin, R.M, Kogan, B.A.2007. Nuevas alteraciones en las actividades de superóxido dismutasa y catalasa en la vejiga de conejo hembra sujeta a manipulaciones hormonales. Int Urol Nephrol 39, 1049–1054 (2007). https://doi.org/10.1007/s11255-007-9176-z.

Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. 2003. Resistencia a los Antiparasitarios: Estado actual con Énfasis en América Latina. Servicio de Sanidad Animal. ISSN 1014-1200.

Ovington, K. S, Alleva, L.M, Kerr. E.A. 1995. Citoquinas y Control Inmunológico de Eimeria spp. División de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Nacional Australiana, Canberra ACT 0200 Australia. Vol. 25. No. I l, pp. 1331—1351, 1995.

Pacheco, José. (2010). Falla ovárica precoz. Anales de la Facultad de Medicina, 71(3), 191-200.

Recuperado en 25 de enero de 2024, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000300009&lng=es&tlng=.

Papeschi. C.2010.Las enfermedades más importantes de la piel de los conejos. Patología. Università degli Studi della Tuscia. Viterbo, Italia.

Patel, Y. Naraian, R. Sing, V.K. 2012. Medicinal Properties of Pleurotus Species (Oyster mushroom): a review. World Journal of Fungal and Plant Biology 3 (1): 01-12. DOI:10.5829/idosi.wjfpb.2012.3.1.303

Paulini F, Silva RC, Rôlo JL y Lucci CM. 2014. Ultrastructural changes in oocytes during folliculogenesis in domestic mammals. J Ovarian Res. 7: 102.

Paul-Murphy, J. 2007. Critical Care of the Rabbit. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 10(2), 437–461. doi:10.1016/j.cvex.2007.03.002

Peeters JE, Geeroms R, Froyman R, Halen P. 1981. Coccidiosis in rabbits: a field study. Res Vet Sci. 1981 May;30(3):328-34. PMID: 7255926.

Peeters, J. E., Charlier, G., Antoine, O., & Mammerickx, M. 2010. Clinical and Pathological Changes after Eimeria intestinalis Infection in Rabbits. Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe B, 31(1-10), 9–24. doi:10.1111/j.1439-0450. 1984.tb01275.x

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. (2020) The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. PLoS Biol 18(7): e3000410. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410

PiSA, Salud animal, Bienestar humano. Ficha técnica. 2024. Coccitrak® 5% N° de Registro Q-7833-202 Antiparasitario.

Poulin, R. 1995. “Adaptive” changes in the behavior of parasitized animals: A critical review. International Journal for Parasitology, 25(12), 1371–1383. doi:10.1016/0020-7519(95)00100-x. 10.1016/0020-7519(95)00100-x

Respaldiza. C.E. 1995. La sarna del conejo. Revista del Consejo general de veterinarios de

España. Boletín de cunicultura.

Respaldiza, C.E. González, H.E. 1984. Enzootia determinación y métodos de control de la coccidiosis intestinal de conejos. Simposium de cunicultura 175-191.

Robledo, R., Aguilar, L., Sánchez, J., Mendoza, P., López, M., Olazaran, J., Reyes, D. 2015. Evaluación de extractos hidroalcohólicos del hongo comestible Pleurotus djamor contra el nematodo parásito de ovinos Haemonchus contortus (L3). Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Memoria, 1, 549-551.

Rodríguez-Vivas, R.I, Ojeda-Chi, M.M, Perez, C. L.C, Rosado, A. J.A, Ramirez,C. G.T, Gemez, C.A.A. 2011. Epidemiología, diagnóstico y control de coccidia bovina. epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

Rovellat-Massó. J.O. 1980. El parasitismo en cunicultura. Boletín de Cunicultura, ISSN 0210-1998, N.º 11, 1980. Pág. 19-24.

SAGARPA. 2018. Actividad pecuaria y sus derivados. Agricultura. Gobierno de México. https://www.gob.mx/agricultura/nayarit/articulos/actividad-pecuaria-y-sus derivados?idiom=es#:~:text=La%20actividad%20pecuaria%20conforma%20un,para%20uso%20alimentario%20u%20industrial. 31(3): 223-226.

Salmones, D. 2017. Pleurotus djamor, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. Revista mexicana de micología, 46, 73-85. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187

Samoggia, G. 1979. El destete del conejo en la producción intensiva. Coniglicoltura, 16 (4-5): 13-18,

Sazmand A, Rasooli. A. Nouri. M, Hamidinejat, H, Hekmatimoghaddam, S. 2011. Serobiochemical alterations in subclinically affected dromedary camels with Trypanosoma evansi in Iran. Pak Vet J. Schumacher A, Costa SD, Zenclussen AC. B Cells: The Old New Players in Reproductive Immunology. Front Immunol. 2014; 5:285.

Serrano F. 2010. Manual práctico de parasitología veterinaria. 1ª ed. España: Universidad de Extremadura. 116 p. ISBN: 978-84-7723-910-9.

Serrano Aguilera, F. J. 2010. Manual práctico de parasitología veterinaria, Cáceres: Universidad de Extremadura, servicio de publicaciones, 2010, 120 pp. Manuales UEX ISSN 9788477239109. Pág. 54

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2015.. *SAGARPA impulsa la cunicultura como alternativa alimentaria y generadora de empleos en el campo*. https://www.gob.mx/agricultura/prensa/sagarpa-impulsa-la-cunicultura-como-alternativa-alimentaria-y-generadora-de-empleos-en-el-campo

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2016. *Todo sobre la producción de carne de conejo.* https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/conoce-todo-sobre-la-produccion-de-carne-de-conejo

MSD SALUD ANIMAL. 2024. Intervet México, S.A. de C.V. Av. San Jerónimo 369, Colonia La otra Banda, Álvaro Obregón, C.P. 01090, Ciudad de México. www.msd-salud-animal.com.mx

Uhart, M., Zaccagnini, M.E. 1999. Manual de Procedimientos Operativos Estandarizados de Campo para Documentar Incidentes de Mortandad de Fauna Silvestre en Agroecosistemas. United States Fish and Wildlife Service. Fundación Argentina. SENASA. SRNyDS.

Valencia del Toro, G., Garín Aguilar, M. E., Téllez Jaimes, M. Á., & Durán Páramo, E. 2008. Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de Pleurotus djamor. Revista mexicana de micología, 28(SPE), 119-123.

Villagrá. A. 2014. El bienestar animal y sus bases etológicas en la cunicultura. Tecnología de producción de conejos para carne. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay.

Wafaa A. Abd El-Ghany. (2021). Coccidiosis: A Parasitic Disease of Significant Importance in Rabbits. Revista veterinaria del mundo. Pág. 499-507. ISSN 23224568 (ISSN).

Werner, M. 2001. Prevalence of the parasiteSacculina carciniThompson 1836 (crustacea, rhizocephala) on its host crabCarcinus maenas (L.) on the West Coast of Sweden. Ophelia, 55(2),

101–110. doi:10.1080/00785236.2001.10409477.

Zendejas-Heredia PA, Colella V, Hii SF, Traub RJ. 2021. Comparison of the egg recovery rates and limit of detection for soil-transmitted helminths using the Kato-Katz thick smear, faecal flotation and quantitative real-time PCR inhuman stool. PLoS Negl Trop Dis. 2021 May 26;15(5):e0009395. doi: 10.1371/journal.pntd.0009395. PMID: 34038411; PMCID: PMC8153506.

Zuck. M., Mckean., K.A. 1996. Sex Differences in Parasite Infections: Patterns and Processes. Department of Biology, University of California, Riverside, CA 92521, U.S. A. International Journal for Parasitology, Vol. 26, No. 10, pp. 1009—1024.

ANEXO 1 Hallazgos importantes

Observaciones y perspectivas: Las conejas naturalmente infectadas con cisticercos no se infectaron experimentalmente con *P. cuniculi.*

El conejo es un animal susceptible a diversas enfermedades causadas por endo y ectoparásitos de manera natural. Los parásitos más comunes en los conejos son ácaros, protozoos, nematodos y cestodos. *T. pisiformis* es un cestodo que altera características metabólicas y productivas (Arias-Hernández *et al.,* 2020) disminuyendo su bienestar (Betancourt-Alonso *et al.,* 2011) y productividad, ya que afecta la cantidad de gazapos al nacimiento (Hallal-Calleros *et al*., 2016). Sin embargo, en un mismo hospedador pueden existir coinfecciones causando diferentes efectos en la evolución de la virulencia y el establecimiento cuando los parásitos interactúan entre sí, pudiendo causar menor o mayor infectividad dependiendo de los agentes que coinfectan (Clay & Rudolf, 2019).

Las conejas utilizadas en el presente estudio fueron criadas en condiciones de granja. Durante la inspección en la necrosis, tres conejas del grupo intactas presentaron metacéstodos de *Taenia pisiformis* en la cavidad intestinal, por lo que se excluyeron del experimento. Sin embargo, es destacable que particularmente estas tres conejas no presentaron infección auricular con el ácaro *P. cuniculi*. Recapitulando sobre trabajos anteriores hemos observado que, a pesar de la alta frecuencia de infección con P. cuniculi en los conejos, no hemos observado conejos que estén infectados con *T. pisiformis* tengan coinfección con *P. cuniculi*, por lo que se proyecta estudiar si la cestodiasis impide el establecimiento de los ácaros.



Figura 21. Imágenes representativas de tres conejas del grupo intactas infectadas con cisticercos, al día 63 de la necropsia.

ANEXO 2

Solución saturada de NaCl (Serrano, 2010 modificada)

La solución saturada que se utilizó posee una densidad de 1.18 g/ml. Sobre una plancha de agitación y calentamiento, se añadió a un matraz Erlenmeyer de vidrio 1000 mL de agua, cuando el agua alcanzó el punto de ebullición y se le añadieron 400 gr NaCl.

Técnica de flotación empleada

- La excreta se pesó a 3 gr para poner en un tubo falcón de 30 ml, se adicionaron 10 ml de solución salina al 35% para macerar, posterior se filtró con gasa y se aforo a 30 ml totales del tubo falcón, con la solución salina.
- Una vez realizado el procedimiento anterior se dejó reposar por 5 minutos para que las coccidias flotaran a la superficie del tubo.
- Las coccidias fueron cuantificadas con el método del hemocitómetro para la infección.
- Para el conteo de la carga parasitaria se cuantificó el valor de 10 µl por triplicado el promedio se multiplicó por el volumen para 1 gr de heces para la cuantificación de ooquistes por gramo de heces (OPG).

Método del hemocitómetro

- Se coloca el cubreobjetos sobre el portaobjetos y solo se cuenta la zona plateada situada bajo el cubreobjetos (0.5 µl de la muestra), se coloca una microgota de 10 µl de la suspensión que contiene ooquistes esporulados.
- El número de ooquistes contados se multiplica por 2.000 (factor que convierte lo cuantificado en la cámara para 1 ml total).
- Se necesita el número total de ooquistes por cultivo y se multiplica el recuento por mililitro por el volumen total de la muestra.
- La dosis de ooquistes se calcula dividiendo el número de ooquistes a inocular por grupo entre el número de ooquistes por mililitro de la muestra.

Infección experimental

- Se usaron 30 gr de heces en 300 ml de solución salina al 35%, posteriormente se procedió al método de hemocitómetro y se ajustó el resultado obtenido en una microgota de 10 µl mediante el método del hemocitómetro.
- Se ajustó la dosis infectiva a 40000 ooquistes esporulados
- Se cuantifican los ooquistes correspondientes a la microgota en tres repeticiones y el promedio se ajustó al volumen total comprobando una dosis de 40000 ooquistes.
- La dosis infectiva se diluyó en 6 ml de solución fisiológica para el inóculo por sonda por conejo.

ANEXO 3

Presentación en congreso 8-11 de noviembre del 2023, Cd de Chihuahua.

Reuniones Nacionales de Investigación e Innovación Pecuaria, Agrícola, Forestal y Acuícola Pesquera.

Reunión pecuaria

Sección: Endocrinología y Reproducción

Publicación en Memoria Pecuaria (http://reunionescientificas2023.inifap.gob.mx)

INFLUENCIA DE LAS HORMONAS OVÁRICAS SOBRE LA INFECCIÓN POR *Psoroptes cuniculi* EN CONEJAS DOMÉSTICAS

Janelly Jiménez-Ruiz1, Claudia Hallal-Calleros 1*, F. Iván Flores-Pérez 2*

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, UAEM

*Autor para correspondencia: challalc@gmail.com

Palabras clave: Ácaro, ovariectomía, hormonas ováricas.

Introducción: El estudio de los mecanismos fisiológicos y conductuales permiten comprender el curso de una enfermedad que puede ser modificada para mejorar la evolución, el tratamiento, o facilitar un diagnóstico. Se sabe que existen factores genéticos, inmunológicos y hormonales que pueden determinar el curso y la gravedad de las infecciones parasitarias. La eliminación de hormonas sexuales mediante gonadectomía puede estimular la respuesta inmune mediada por células y alterar la estructura de los tejidos inmunológicos relacionados. En ratonas ovariectomizadas, la infección causada por *T. cruzi* presentan una mayor parasitemia (Bello-González, 2012), y en cerdos gonadectomizados e infectados con *Trichinella spp* se observó una mayor carga parasitaria (Reveles–Hernández, 2011). El ácaro ectoparásito Psoroptes cuniculi causa una enfermedad dermatológica afectando el bienestar y el rendimiento en la producción, y no se conoce el impacto de las hormonas sexuales en esta parasitosis.

Objetivo: Evaluar el efecto de las hormonas ováricas sobre la susceptibilidad a la infección con *Psoroptes cuniculi*.

Materiales y métodos: Proyecto aprobado por el Comité Interno de Bioética en Animales de Experimentación (CIBioAE), U.A.E.M. Se utilizaron 16 conejas adultas con un peso de 3.2 ± 0.08 kg en condiciones de granja, se les proporcionó alimento comercial en pellet (Malta Cleyton®) y agua a libre demanda. Ocho conejas fueron ovariectomizadas (OV) y ocho permanecieron intactas; a ambos grupos se les administró 1 mg de propionato de estradiol vía intramuscular 5 días antes de la infección. Cada coneja en ambos grupos se inoculó con 300 ácaros en el canal auditivo en la oreja izquierda, colocados en algodón, protegido con gasa estéril y cinta adhesiva para garantizar la infección, retirando a las 24 horas. La evaluación cualitativa del grado de infección sé analizó semanalmente utilizando el método descrito por Guillot et al (1981). Para la evaluación cuantitativa del grado de infección, se realizó el día del sacrificio, extendiendo la oreja para medir el área lesión del pabellón auricular, con ayuda de una película de acetato con cuadrícula de 1 cm2. Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico Graphpad Prism 8.0.1.

Resultados: En la evaluación cualitativa se observó una disminución en el grupo de las conejas intactas del 67% ($P \leq 0.0001$) versus el grupo de ovariectomizadas en el día 65 (Fig. 1a). En la evaluación cuantitativa se vio una disminución en el grupo de intactas de solo un 31.2% ($P < 0.001$), sin embargo, en el grupo de ovariectomizadas se observó una mayor lesión que la observada cualitativamente (Fig. 1b).

Discusión: En este estudio se observó que conejas intactas infectadas con Psoroptes cuniculi presentaron una disminución en el grado de infección versus conejas ovariectomizadas. En otras parasitosis se ha demostrado que las hormonas sexuales son importantes en el desarrollo de enfermedades parasitarias. Ratonas ovariectomizadas infectadas con *T. cruzi* presentaron lesiones inflamatorias más graves versus ratonas intactas, esto se asoció a los niveles de estrógenos como regulador de respuesta inmune (Bello- Gonzáles, 2012); en cerdos

gonadectomizados con *Trichinella* se observó una mayor carga parasitaria en relación con cerdos infectados, asociándolo a la edad, sexo, estado nutricional, hormonal y respuesta inmunológica (Reveles- Hernández, 2011).

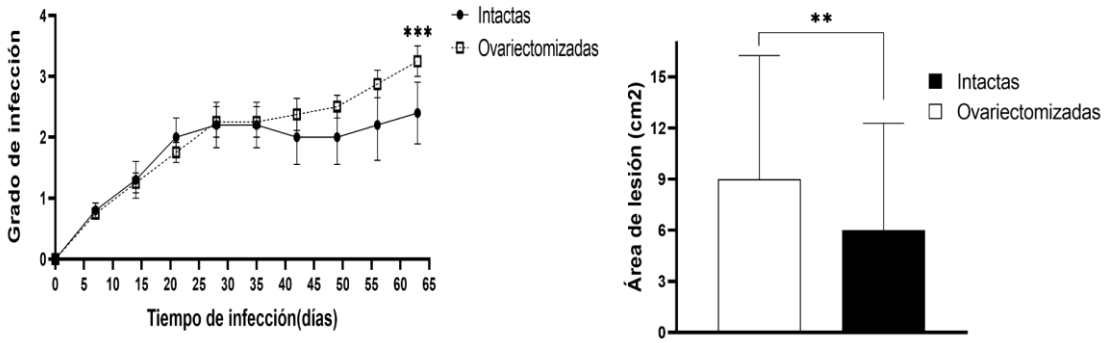


Figura 1. a) Evaluación cualitativa en conejas domésticas intactas y ovariectomizadas infectadas con *P. cuniculi* durante 63 días. ANOVA de medidas repetidas. b) Evaluación cuantitativa en conejas domésticas intactas y ovariectomizadas, al día 63 post-infección con *P. cuniculi*. Mann-Whitney. Media+EE, **P<0.005, ***P<0.0005.

Conclusiones. La ausencia de hormonas ováricas influye en el grado de infección por P. cuniculi a los 63 días post- infección aumentando la susceptibilidad a la infección.

Agradecimiento: JJR agradece la beca otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología.

Fuente financiadora. Sin financiamiento externo o institucional.

Referencias bibliográficas

Bello-Gonzales, B. 2012. Desarrollo de la infección experimental con Trypanosoma cruzi en hembras ovariectomizadas de la cepa de ratones BALB/c. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Universidad de Chile.

Reveles- Hernández, RG., Saldívar- Elías, SJ., Maldonado- Tapia, C., Muñoz- Escobedo, JJ., Moreno- García, MA. Evaluación de la infección de Trichinella spiralis en cerdos gonadectomizados, Zacatecas, México. Acta Médica peruana, 28 (4), 211-216.

Wright, FC., Guillot, FS., and Meleney, WP. 1981. Transmission of psoroptic mites from bighorn sheep (ovis canadensis mexicana) to domestic sheep, cattle and rabbits. Journal of Wildlife Diseases, 17(3):381-386.

ANEXO 4

Presentación en congreso, del 8-11 de noviembre del 2023, Cd. de Chihuahua.

Reuniones Nacionales de Investigación e Innovación Pecuaria, Agrícola, Forestal y Acuícola Pesquera.

Reunión pecuaria

Sección: Salud animal, Diagnóstico, Control y Epidemiología

Publicación en Memoria Pecuaria (http://reunionescientificas2023.inifap.gob.mx)

INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON EIMERIA SPP EN CONEJOS ADULTOS DE LAS RAZAS NUEVA ZELANDA, CALIFORNIA Y CHINCHILLA

Janelly Jiménez-Ruiz1, Emmanuel Dunstand Guzmán-Díaz 1, Claudia Hallal-Calleros 1, Fernando Iván Flores-Pérez1*

1 facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FCA-UAEM)

*Autor para la correspondencia: ivan.flores@uaem.mx

Palabras clave: Coccidiosis, conejos, infección

Introducción. El conejo es una especie pecuaria que genera productos como carne y pieles, además de ser animal de compañía y emplearse en la investigación biomédica. El conejo doméstico puede ser afectado por diversos patógenos, dentro de estos la parasitosis conocida como coccidiosis cunícola que se aloja en el intestino delgado, el colon y el hígado. La coccidiosis cunícola es causada por distintas especies de *Eimeria*, dentro de las cuales la que tiene una localización hepática e induce granulomas, es la más patógena y es la especie *Eimeria stiedae* (Katsui et al., 2022). Se sabe que las infecciones naturales en su mayoría dependen de más de una especie, sin embargo, la mayoría provoca la disminución de la ganancia de peso, diarreas, y la producción masiva de ooquistes en heces (Katsui et al., 2022). Las investigaciones sobre la coccidiosis por *Eimeria* en conejo generalmente se realizan sobre infecciones experimentales en la raza Nueva Zelanda, y en individuos jóvenes por lo cual

frecuentemente mueren a lo largo de los experimentos, por lo que es importante conocer si las razas Chinchilla y California responden de forma similar a la infección, además de valorar si al infectar animales adultos es viable para evaluar sustancias desparasitantes con un menor riesgo de muerte para el sujeto experimental empleado.

Objetivo. Evaluar la cantidad de ooquistes excretados, la ganancia de peso y el peso final, en conejos adultos de distintas razas, posterior a la infección experimental con *Eimeria spp*.

Materiales y métodos. La infección experimental se realizó en conejos Nueva Zelanda (G1), California (G2) y Chinchilla (G3) con un peso de ~3.1 kg (6 animales por grupo). La infección se realizó con un inóculo de 40,000 ooquistes esporulados de *Eimeria spp* obtenidas de heces de gazapos naturalmente infectados (Çam et al., 2008). A los 28 y 29 días post infección, se colectaron heces y se cuantificaron los ooquistes excretados por cada conejo mediante la técnica de flotación con solución salina al 35% y conteo por microgota (10µl), cuantificando los ooquistes a volumen total (Zendejas-Heredia et al., 2021). Los valores de peso se recabaron usando una balanza digital, y la ganancia de peso se obtuvo con respecto al peso inicial de cada animal. Los análisis estadísticos empleados fueron la prueba Kruskal- Wallis para datos no paramétricos y Tukey-Kramer para datos que presentaron una distribución normal.

Resultados y Discusión. La infección experimental en el grupo G1 causó la excreción de 15.5±2.7 x103 ooquistes por gramo de heces, mientras que en G2 la cantidad promedio fue de 15.5±2.2 x103 sin diferencia estadística entre ellos (P=0.711). En el grupo G3 se observaron 24.5±7.0 x103 ooquistes, lo que representa en promedio 9.3x103 ooquistes más que G1 y G2, sin embargo, la diferencia entre grupos no es significativa, por lo que podemos mencionar que se observa solo una tendencia a una mayor susceptibilidad de infección en conejos Chinchilla. Se identificaron hasta ocho diferentes ooquistes de *Eimeria spp* y los animales se mantuvieron sin signos de diarrea. El grupo G3 presentó una ganancia de peso de 205.8 g en promedio, mientras que G1 y G2 tuvieron una ganancia de 149.8 y 127.1 g respectivamente, sin diferencia estadística entre las tres razas (P>0.05

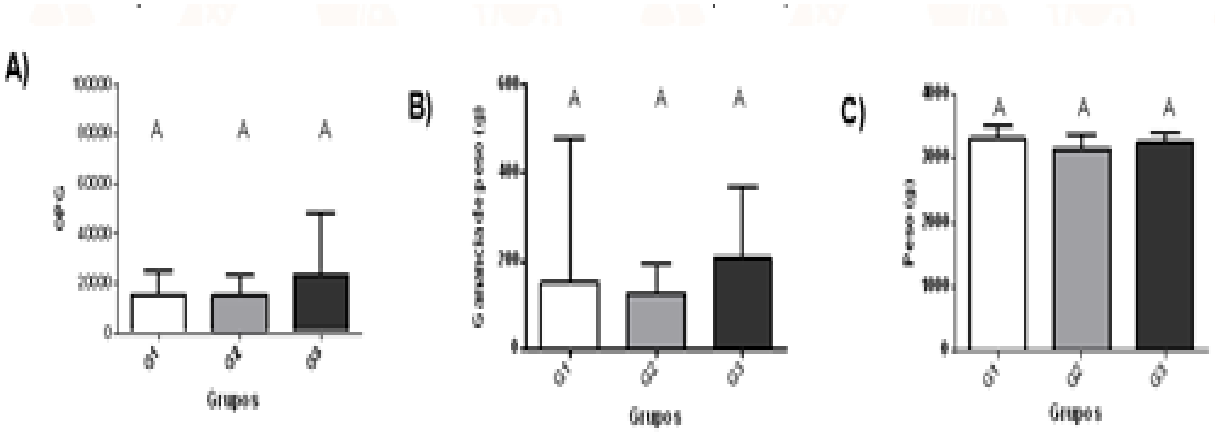


Figura 1.- Gráficos del seguimiento de la infección por *Eimeria spp* en conejos Nueva Zelanda (G1), California (G2) y Chinchilla (G3) sobre; el número de ooquistes por gramo de heces (OPG) los días 28 y 29 de infección (A), ganancia de peso (B) y peso final (C), datos promedio+desviación estándar, literales iguales significa similitud estadística (P>0.05).

Los pesos finales de los grupos G1, G2 y G3 fueron 3.30. 3.15 y 3.25 kg respectivamente (P>0.05), lo anterior sugiere que los machos adultos de las tres razas presentan similitud de respuesta ante la infección experimental con *Eimeria spp*. En estudios anticoccidiales y de respuesta a infecciones experimentales con *Eimeria spp* en conejos es frecuente el uso de la raza Nueva Zelanda, nuestro hallazgo indica que otras razas responden de forma similar a la infección (Gómez-Bautista et al., 1987), cotidianamente se emplean conejos jóvenes, sin embargo, los conejos adultos pueden ser reservorio de las infecciones coccidiales al ser menos susceptibles que los gazapos. Nuestro trabajo indicó que los conejos adultos también producen ooquistes de una forma similar entre razas y por lo tanto pueden ser utilizadas como modelo de estudio para tratamientos farmacológicos, con la ventaja de que al ser animales adultos la infección experimental no es tan virulenta y patógena como ocurre en animales jóvenes, los que frecuentemente tienen una alta tasa de mortalidad.

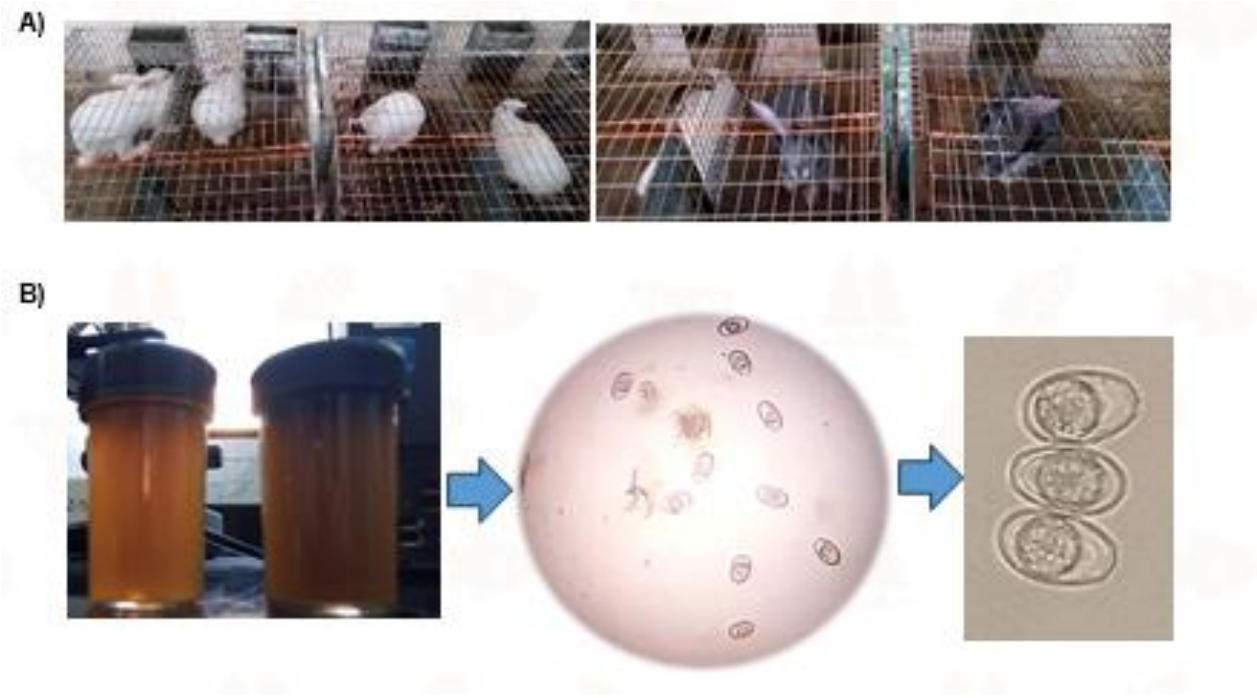


Figura 1.- Razas de conejos machos Nueva Zelanda, California y Chinchilla usados en la investigación, sección A). Pruebas coproparasitológicas por flotación para la cuantificación de ooquistes en microscopio óptico y visualización del ooquiste de *Eimeria spp* 40X, sección B).

Conclusiones. El uso de conejos adultos de las razas Nueva Zelanda, California y Chinchilla presentan semejante susceptibilidad a la infección entre razas, sin pérdida de peso y sin presencia de diarrea, por lo que pueden ser empleados como animales experimentales para la evaluación de productos desparasitantes, y se puede proponer emplearlos en los diseños experimentales en sustitución de animales jóvenes.

Agradecimiento: EDG agradece la beca CONAHCYT (305290)

Referencias bibliográficas

Gómez-Bautista, et al., (1987). The effect of the host 's age on the pathology of Eimeria stiedae infection in rabbits. Veterinary parasitology, 24(1-2), 47-57.

Katsui, K et al., (2022). Molecular identification of Eimeria species in liver and feces of naturally infected rabbits in Japan. Parasitology Research, 121(9), 2733-2738.

Zendejas-Heredia et al., (2021). Comparison of the egg recovery rates and limit of detection

for soil-transmitted helminths using the Kato-Katz thick smear, faecal flotation and quantitative real-time PCR inhuman stool. PLoS neglected tropical diseases, 15(5), e0009395.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Dirección
Jefatura de los Programas Educativos de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 11 de diciembre de 2024
Asunto: voto aprobación de tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
Director de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
P R E S E N T E.

Por medio del presente le informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO**, que presenta la estudiante **Janelly Jimenez Ruiz**, mismo que fue desarrollado bajo mi dirección y la codirección de la **Dra. Claudia Hallal Calleros**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural,** lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN**para que la estudiante continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se anexa hoja con firma electrónica
DR. FERNANDO IVÁN FLORES PÉREZ

C.i.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

FERNANDO IVAN FLORES PEREZ | Fecha:2024-12-12 18:48:16 | FIRMANTE

rgWHij3FsVwfLX4dW3LRC+3akW+QbNF/k6bDyLMh7WTeZQwnJk9j9IjE0LQa8WMWwAlT66r/HE+2t7KUgxA2x8p0L0cS4v6Hr9F9mYMJo6QsVmuQCBsCwKTHd4Xs3arvCbPHVTfsUbbLLDMl464jtoIh5VNRIbRWZi6CRE5OqRQ7t71kxbl6OWTqtTbYDyzi5jogvLVd+Y3VHsOKO32AhSIBmuPHS5xEQRdEXVZ4vFSoHipubHg3uqLEOohH5rmDlJRT8pZn79YXx5Rkk5kdnornIkXOLSmN2tF1pUl36WIBu7hhXf4xijVj41b7J2SPXeSINkOgTr0kqtX9HRUhww==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

vilcPgfTs

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/vDshSMTQc00n20gTQ3ysTBgHz0NG5LrO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Dirección
Jefatura de los Programas Educativos de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 11 de diciembre de 2024
Asunto: voto aprobación de tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
Director de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
P R E S E N T E.

Por medio del presente le informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO**, que presenta la estudiante **Janelly Jimenez Ruiz**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **Dr. Fernando Iván Flores Pérez** y la codirección de la **Dra. Claudia Hallal Calleros**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural,** lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la estudiante continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se anexa hoja con firma electrónica
DR. VIRGINIO AGUIRRE FLORES

C.i.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

VIRGINIO AGUIRRE FLORES | Fecha:2024-12-13 01:00:28 | FIRMANTE

scKz8Sn2E2q6wtmAMJWhJo2/l/aLfxkr1uKt0ZxJrErfW9Pd6YvUlQE0GR89P6ENZXrN+QKI9hfJ74FqX1mq0/ErNyUv0S4o39CQsySVOYr+KO1XlSr9TQyA73eAfIxtW7d0pW6k5D
Ff2tVQOX7DKv0H7ZcpAwFcktK8fz0XUvjU5j72uAstIFIrosbJJ0UsnPHRmY6HCILO3Al0kIFHot0N4EZ2STUS+aJpFAly19RpB7midiDAAiWdOoyPe9Pl2SNVX4IIOP+TwssNpEqlg
YlOFIJwSs/HMCRt68Aa4xF9USQ+D7xOmWKlqYg0ko40zfqLk0b0rcqPRcUn7+iMXA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

yVMhdScYu

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/rZYnWP3Vfco0rrv68N6KIMAn4xBr8lvN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Dirección
Jefatura de los Programas Educativos de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 11 de diciembre de 2024
Asunto: voto aprobación de tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
Director de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
P R E S E N T E.

Por medio del presente le informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO**, que presenta la estudiante **Janelly Jimenez Ruiz**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **Dr. Fernando Iván Flores Pérez** y la codirección de la **Dra. Claudia Hallal Calleros**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural,** lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la estudiante continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se anexa hoja con firma electrónica
DR. GUADALUPE PEÑA CHORA

C.i.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

GUADALUPE PEÑA CHORA | Fecha:2024-12-12 20:38:05 | FIRMANTE

xvfrOVQuN2AcaPiiwei3bnBXMRvvS/k4GiVdYI6zAwHwvndwBxqjxF8O9rAKR17J2AUwAj318qFeatj3WFGEWsWtZ6fzdK7o0J6kjBfzudsjAano6mNKhwi8RxI2T+aPtjlawGc4kblOHqrvdXyGdVooBRUzg35hKwBUKjBydPqEA6Q0goA6wc+0M9d6DJk8bhHwwwBX+rUY0psTpOy6FDjvdHr2FutxXFO05tSzNR4Mdoct67rEmnVNtYkzb4zipJMtrVpRmkiwqG0mYQNDayr0f24uqinJKh/8VuNOpCHFAoR26cuTH9OhMh7M2KIihMYjqpW/dU+gGHgWIC6LeA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

NInRaXJr5

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/J7QNjOD7e0UeDWn0q9QVQI4mbpjdmw4K

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Dirección
Jefatura de los Programas Educativos de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 11 de diciembre de 2024
Asunto: voto aprobación de tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
Director de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
P R E S E N T E.

Por medio del presente le informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO**, que presenta la estudiante **Janelly Jimenez Ruiz**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **Dr. Fernando Iván Flores Pérez** y la codirección de la **Dra. Claudia Hallal Calleros**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural,** lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la estudiante continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se anexa hoja con firma electrónica
DR. KURT HOFFMAN

C.i.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

KURT LEROY HOFFMAN | Fecha:2024-12-17 09:08:54 | FIRMANTE

AwW/bpg61KLL9JMKQSg/cUm18oSPKCyN0y4AcJxj3tNaE41KgWKFGcEL0WFUboFAQuwgy1FYBBpjvFnycZ92oEvmwmtC6KI0Yr2w+LmK24xm7fat/B5mSEJcCBKFaa57qieP0Kf40Dlddo/4zUuNXGZMPZVKfMfftLFJjTQ7L8miQwyse7O+iqWxN0IGG0oLn43XzPjAARRke6fyD/ucqyeFWajApZSW2o3eBZluitcTzfeFmViQsqhNiuK7No71UYzfkoHLYiKapeJDKl40IkUDcZx9bAP3MPo2oIdDtIINt0JU4T0CDYQ7nv0Fg4JDaxNcyu4+puXLFuHQMqNnFQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

mkGhLcAEP

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/wTjnjAu6pXktey78FlVrt6Zf0KH4qs1u

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Dirección
Jefatura de los Programas Educativos de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 11 de diciembre de 2024
Asunto: voto aprobación de tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
Director de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
P R E S E N T E.

Por medio del presente le informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **INFLUENCIA DE LA OVARIECTOMÍA Y LA APLICACIÓN DE UN POTENCIAL ANTICOCCIDIANO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE PARÁSITOS EN EL CONEJO DOMÉSTICO**, que presenta la estudiante **Janelly Jimenez Ruiz**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **Dr. Fernando Iván Flores Pérez** y la codirección de la **Dra. Claudia Hallal Calleros**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural,** lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la estudiante continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se anexa hoja con firma electrónica
DR. GERMAN BERNAL FERNANDEZ

C.i.p. Archivo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

GERMAN BERNAL FERNANDEZ | Fecha:2024-12-13 11:51:35 | FIRMANTE

NYIu126XK4O8jVRG/mCtiebdD50KpScItRDiqfkU5qGAvF6ngQq984jH49t6nuYz4tdDJwbXWA39u1AV9JIOIuunFZZoGfoeS6dmXEgwkakrlRRoHa+8GjcUVtllsf2YMisGPq88vmE1
fuBMboO38JWEZNJhSQJn/d/Vkmtddm30NoAlBTPrAKhisHNoOAsDeM145FiMElo8uecUxmlAjaqLQjm3MBWRb0R+wL8vnXf9XZdHgm79wa1JSsE/OlPiN3m05KcTFEcNU+E05
Sn3EnRZbY8nxfg/CGoiWNSsq8mLDYJeDFDbn1px6KC8iL9a9YWkj/dE7IfYG7MjecIeIw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

nokVDWXBw

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/j9O6XZmuShy1AdVApkLwzb50a1gSh4Nx