



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria



ÍNDICE

1. Resumen/Abstract.....	1
2. Introducción.....	2
2.1. La coccidiosis en el ganado ovino.....	2
2.2. Tratamientos convencionales de la coccidiosis en corderos.....	5
2.2. La fitoterapia como alternativa a los tratamientos convencionales.....	6
3. Justificación y objetivos.....	8
4. Metodología.....	11
4.1. Formación de lotes.....	11
4.2. Condiciones de los lotes en estudio.....	12
4.3. Materiales utilizados.....	12
4.3.1. Productos terapéuticos a emplear en el pienso.....	13
a) Coccidiostático de síntesis: Decoquinato.....	13
b) Mezcla de extractos de plantas medicinales.....	14
- <i>Rosa canina</i> (Escaramujo).....	14
- <i>Glycyrrhiza glabra</i> (Regaliz).....	15
- <i>Calendula officinalis</i> (Caléndula, Maravilla).....	16
4.3.2. Piensos administrados.....	17
a) Pienso convencional.....	17
b) Pienso ecológico certificado.....	18
4.4. Toma de muestras y registro de datos.....	18
4.5. Procesado de las muestras.....	19
4.6. Análisis estadístico de los datos.....	22
5. Resultados y discusión.....	22
a. Ganancia Media Diaria (GMD).....	22
b. Consumos de pienso e índices de conversión.....	23
c. Evolución de la carga parasitaria.....	25
d. La respuesta inmunitaria.....	26
e. Discusión de los resultados obtenidos.....	26
6. Conclusiones/Conclusions.....	27
7. Valoración personal.....	28
8. Bibliografía.....	29

1. RESUMEN

La coccidiosis es una enfermedad parasitaria digestiva frecuente y de gran relevancia en corderos de cebo. Por otro lado, la fitoterapia es una disciplina basada en el uso de plantas medicinales para prevenir y tratar enfermedades. Este estudio plantea la fitoterapia como una alternativa beneficiosa de prevención y/o tratamiento contra la parasitación digestiva mencionada, mediante el desafío en granja de un tratamiento fitoterapéutico frente a un tratamiento convencional de síntesis química como el decoquinato, aportados ambos en los piensos.

Se seleccionaron, en una explotación comercial de ovino de carne situada en Leciñena (Zaragoza), 48 corderos entrefinos (Rasa Aragonesa) que comenzaban su cebo, se dividieron aleatoriamente en 4 lotes de 12 animales atendiendo a su sexo, edad, peso y tipo de parto.

Las condiciones mencionadas se mantuvieron durante tres semanas, período en el que semanalmente se registraron los pesos y consumos de pienso de los animales y se cuantificó su carga parasitaria. Se procedió también, en los días 0, 14 y 21 a la obtención de muestras de sangre para valorar los niveles de inmunoglobulinas y células de la serie blanca, indicadores de la situación y evolución inmunitaria de los animales.

El producto comercial fitoterápico testado no mostró diferencias significativas en la reducción o control del número de ooquistes frente al decoquinato, aunque ambos grupos tratados presentaron recuentos menores que los lotes control. Sin embargo, se manifestó una tendencia de mayores pesos al final del estudio en los lotes de animales alimentados con piensos convencionales. En cuanto a la respuesta inmunitaria, no se encontraron valores de una eosinofilia como reacción frente al parásito en ninguno de los grupos.

La fitoterapia se evidenció como una opción preventiva y terapéutica que potencia la ausencia de residuos químicos en el producto cárnico final.

SUMMARY

Coccidiosis is a parasitic digestive disease, frequent and of great relevance in weaning lambs. On the other side, phytotherapy is a discipline based on the use of medicinal plants to prevent and treat illnesses. This study presents phytotherapy as a beneficial alternative of prevention and/or treatment against the mentioned digestive parasitization, through the challenge in farm of a phytotherapeutic treatment against a conventional chemically synthesized one as the decoquinate, both introduced in the feed.

48 medium-fine lambs (Rasa Aragonesa), which were about to start the weaning period, were selected in a commercial sheep meat farm located in Leciñena (Zaragoza) and divided randomly into 4 groups of 12 animals, attending to their sex, age, weight and type of birth.

The mentioned conditions were maintained for three weeks, period during which weights and feed consumption were registered and their parasitic load was quantified, all of it weekly. In addition to these, blood samples were collected on the days 0, 14 and 21, in order to measure the levels of immunoglobulins and white cells, which indicate the status and evolution of the immune response of the animals.

The phytotherapeutic commercial tested product didn't show significant differences in the reduction or control of the number of oocysts in comparison to decoquinate, but both treated groups presented lower counts than the control groups. However, it could be seen a tendency of higher weights in the final of the study in the groups fed with conventional feed.

Regarding the immunological response, eosinophilia values were not found as a reaction against the parasite in none of the groups.

Phytotherapy was evidenced as a preventive and therapeutic option that promotes the absence of chemical residues in the final meat product.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 La coccidiosis en el ganado ovino

La coccidiosis es una patología intestinal producida por parásitos protozoarios denominados coccidios que, en el caso de la especie ovina, se corresponden con diversas especies del género *Eimeria*, de gran afinidad por su hospedador, de las que hoy en día se conocen 11 (Cervantes Valencia, 2016). Dentro de estas, *E. ovinoidalis* y *E. crandalis* se describen como las más patógenas, si bien las infecciones suelen cursar de una forma mixta (Saratsis et al., 2011).

La presencia de estos parásitos es común en las granjas de ovino destinadas a la producción cárnica, dando lugar a afecciones intestinales, especialmente durante el cebo de los corderos, debido a la preferencia del parásito por individuos jóvenes. Por otro lado, en el ovino adulto se desarrolla un estado de resistencia inmunitaria frente a ellos, si bien no impide que sean portadores inaparentes (Sánchez Acedo et al., 2013).

El coccidio sigue un ciclo directo o de un solo hospedador, en este caso el ovino. Este comienza con la ingestión por parte del cordero de oocistos, generalmente de la piel de los pezones, suelo, alimento o agua contaminados. Los oocistos deben ser previamente esporulados en el ambiente, proceso que se ve favorecido por ambientes húmedos, sombríos y

con temperaturas intermedias, y que otorga al ooquiste su capacidad infectante (Sánchez Acedo et al., 2013). A partir de la ingestión, los ooquistes llegan al intestino delgado y liberan esporocistos con esporozoitos en su interior. Estos últimos se adentran en las células epiteliales del intestino, donde se suceden diferentes estadios del parásito a través de ciclos reproductivos asexuales, invadiendo para cada uno de ellos nuevos enterocitos vecinos (Reina et al., 2011). Tras una rápida multiplicación en el intestino delgado, los esquizontes resultantes liberan merozoitos de segunda generación que se adentran en las células del intestino grueso. De esta manera, originan gametos mediante reproducción sexual, que finalmente forman ooquistes sin esporular, destinados a salir al ambiente mediante las heces (Chartier y Paraúd, 2012). El ciclo se completa en unas dos o tres semanas, según la especie de *Eimeria* de la que se trate (Andrews, 2013) (figura 1).

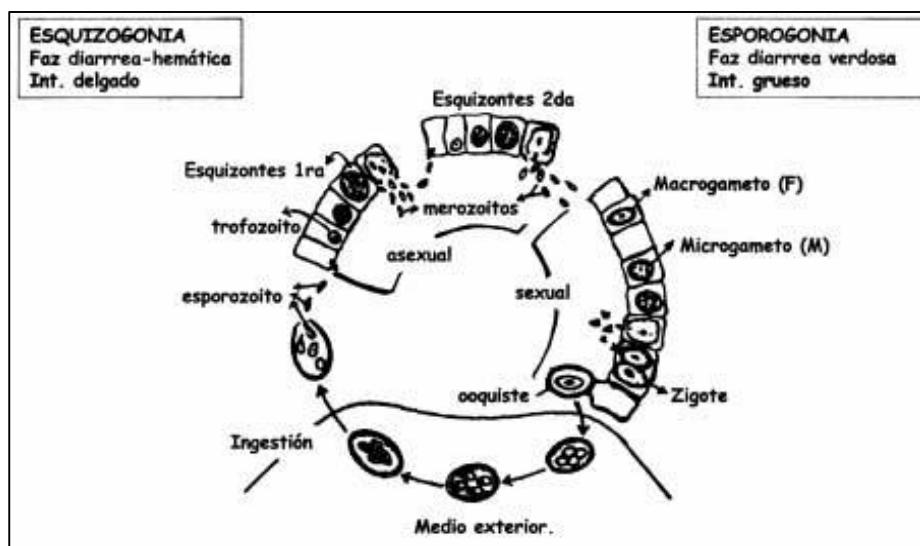


Figura 1. Ciclo de *Eimeria spp.* en la especie ovina. Fuente: *Enfermedades parasitarias de los bovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*, 231-236 (Rossanigo, 2007).

En estos tramos del digestivo, el parásito se asienta, nutre y reproduce en su pared, invadiendo los enterocitos y produciendo como consecuencia daños a nivel microscópico, que en los casos en los que la infestación se vuelve masiva y persistente, conducen a una lesión generalizada y macroscópica de carácter inflamatorio del intestino, denominada enteritis proliferativa (Ferrer, García de Jalón y de las Heras, 2007) (figuras 3 y 4). Esta respuesta inflamatoria dificulta a nivel del intestino delgado la correcta absorción de nutrientes por parte de los corderos, derivando sintomáticamente en adelgazamiento y diarreas (Rossanigo, 2007), que suelen adoptar un característico color oscuro atribuible a las pequeñas hemorragias producidas por los coccidios, si bien pueden ser también de tipo catarral (García de Jalón., 2000) (figuras 2, 3 y 4).



Figuras 2, 3 y 4. Coccidiosis clínica y lesiones de enteritis asociadas. Fuente: *Atlas de patología ovina* (Ferrer, García de Jalón y de las Heras, 2007).

Dada la gran resistencia de los coccidios en el ambiente en forma de ooquistes, resulta fácil la infección de otros individuos tras la excreción de los mismos a través de las heces por un animal parasitado, siempre y cuando se hayan dado las condiciones favorables para su esporulación. Esto último es altamente probable en un sistema intensivo con mayor hacinamiento de los animales y/o una deficiente higiene de las camas, y menos probable en condiciones de producción extensiva en las que los ooquistes se dispersan en gran medida en el ambiente (Sánchez Aedo et al., 2013). Así mismo, debe tenerse en cuenta su alto ritmo de multiplicación; un ooquiste ingerido puede dar lugar a millones de ellos (Andrews et al., 2013), situando el pico máximo de excreción entre los 12 y los 21 días post infección (Reina et al., 2011). Los casos con sintomatología clínica en rumiantes se asocian a recuentos superiores a 10.000 ooquistes por gramo de heces (Fiel, Steffan y Ferreyra, 2011). La mayor contribución a la carga ambiental es atribuible a los corderos sintomáticos y en general a los individuos jóvenes, aunque hay que tener en cuenta que los individuos adultos también pueden comportarse como portadores y excretores asintomáticos, siendo clave así en el mantenimiento del ciclo parasitario (Rojo-Vázquez et al., 2011).

El diagnóstico de la enfermedad es complejo, ya que en muchas ocasiones cursa de forma inaparente, y la detección de ooquistes en las heces es posible en todas las edades y no implica necesariamente el desarrollo de la enfermedad. Los casos clínicos pueden sospecharse mediante la observación de síntomas en corderos entre las 2 semanas y 8 meses de edad, que comprenderán principalmente diarrea, debilidad, apatía y pérdida progresiva de peso, así como del ambiente y las condiciones de vida de los animales, en busca de deficiencias higiénicas o factores de estrés (Rossanigo, 2007). Si es posible, se recomienda realizar un análisis coprológico de carácter cuantitativo y cualitativo tratando de identificar las especies patógenas de *Eimeria*. No obstante, en muchas ocasiones la apreciación de la diarrea no se corresponde con la

excreción de ooquistas, incluso se describen casos de excreciones masivas con bajas o ausentes manifestaciones clínicas (Rojo-Vázquez et al., 2011). La necropsia y el estudio histopatológico del tejido intestinal pueden revelar lesiones patognomónicas de la enfermedad (Chartier y Paraud, 2012) (figuras 3 y 4).

En definitiva, el mayor problema viene dado por la proliferación excesiva del coccidio, a lo que contribuyen diversos factores como la alimentación, el estado inmunitario, el sistema productivo, la carga ambiental a la que son expuestos los corderos, etc. (Rossaningo, 2007). Al prolongarse esta situación en el tiempo, y además de las lesiones locales causadas por el parásito, se instaura un estado de insuficiencia nutricional y el sistema inmunitario del animal agota sus recursos y se debilita, quedando susceptible con mayor facilidad al desarrollo de otras patologías, que finalmente pueden resultar fatales para el animal. Económica y productivamente hablando, esto se traduce en grandes pérdidas por la reducción del crecimiento de los corderos, así como una mayor mortalidad por patologías secundarias a la inmunosupresión causada por los coccidios (Andrews et al., 2013).

Por todo ello, no es una patología calificada clínicamente como grave en sí misma, pero pueden serlo sus consecuencias tanto a nivel sanitario como económico, por lo que la coccidiosis debe ser tenida en cuenta en todos los programas de manejo y sanitarios de las ganaderías en producción intensiva de ovino de aptitud cárnica.

2.2. Tratamientos convencionales de la coccidiosis en corderos

Dada su resistencia en el ambiente y presencia desapercibida en animales de distintas edades, el coccidio es un parásito altamente prevalente en las granjas y muy difícil de erradicar, así que los intereses se centran, en definitiva, en la prevención de una proliferación masiva del mismo en los corderos (Saratsis et al., 2011).

Las medidas de manejo aplicables son esenciales, así como eficaces, y consisten en evitar una sobrecarga ambiental para reducir así la exposición a los ooquistas infectantes, al mismo tiempo que se mejoran las condiciones de vida de los animales, importantes en el desarrollo de la enfermedad. Estas metas se consiguen fundamentalmente mediante una adecuada higiene de las camas, instalaciones, ajustes en la densidad de animales y separación de los enfermos, entre otras medidas (Rojo-Vázquez et al., 2011).

No obstante, también existen varios grupos de medicamentos de síntesis útiles para la prevención y/o curación de la enfermedad, cada uno con un mecanismo de actuación y pauta de administración diferente. La elección de uno u otro, o una combinación de ambos depende

de estos factores, así como de su eficacia, período de supresión, la etapa productiva en la que se encuentren los corderos, etc. (Andrews, 2013).

A modo de ejemplo representativo, el decoquinato es uno de los coccidiostáticos usado normalmente como tratamiento preventivo y continuo, que se administra como premezcla medicamentosa durante la fase de cebo de los corderos (Taylor y Bartram, 2012). Tanto las triacintonas como el toltrazuril o el diclazuril son otros coccidicidas que resultan eficaces como terapia con una sola dosis; junto con el decoquinato, son medicamentos sujetos a prescripción veterinaria capaces de actuar a lo largo de todo el ciclo del coccidio mediante la inhibición de procesos metabólicos básicos del parásito (Sayago et al., 2004).

La quimioprofilaxis es útil y ampliamente utilizada para prevenir la enfermedad, pero algo que debe tenerse en cuenta es que los productos empleados interfieren y anulan el desarrollo de la respuesta inmune, por lo que la brusca suspensión de los mismos puede ser a su vez causa de brotes clínicos de la enfermedad (Rojo-Vázquez et al., 2011).

Los productos de síntesis química mencionados, en especial los coccidiostáticos, son sencillos de aplicar y su uso generalizado como preventivos se debe a su eficacia demostrada en la reducción de los ooquistes excretados y el consiguiente alto rendimiento productivo y económico de los corderos (Reina et al., 2011).

2.3. La fitoterapia como alternativa a los tratamientos convencionales

La fitoterapia (del griego *fytó* = planta y *therapeia* = terapia), es un tipo de terapia que se fundamenta en el empleo de plantas y sustancias vegetales para la prevención y/o tratamiento de enfermedades (Berdonces, 2003).

Este término es reciente, y quizás puede ser poco conocido, ya que fue definido así en 1985 por el Dr. Auguste Soins y extendido en la comunidad científica y médica del siglo XX por el Dr. Henri Leclerc (Berdonces, 2003). Sin embargo, el uso de las plantas medicinales es muy antiguo y está ya bastante extendido. Durante el paso del ser humano por la Tierra, y desde sus inicios, su estrecho contacto con la naturaleza ha derivado en el descubrimiento de numerosas propiedades beneficiosas inherentes a las plantas que le rodean, que han sido aprovechadas a lo largo de la historia en términos de salud (de Cataluña, 2002). Hoy en día, existe constancia de papiros del antiguo Egipto con numerosas recetas basadas en sustancias vegetales, escrituras babilónicas que listan drogas vegetales, formularios de la antigua India que elogian las plantas medicinales y proporcionan muchas de las que conocemos, remedios de célebres médicos árabes como Avicena, transcripciones de la Edad Media, etc. Cabe destacar la antigua medicina China, de la que la medicina moderna occidental ha obtenido grandes conocimientos y avances

en la llamada farmacología o ciencia de las drogas medicinales, gracias a su creencia en que la naturaleza guarda remedios apropiados para cada enfermedad y a su destacable y muy antiguo compendio de farmacología china tradicional titulado *Pen ts'ao kang mou*, de origen atribuible al año 2697 a.C., que fue publicado hacia 1597 y que contiene un número de fórmulas y sustancias activas que por entonces superaron con creces a cualquier recopilación anteriormente elaborada. (Equipo Tikal, 2010).

Durante un largo tiempo, los remedios naturales, destacando las plantas medicinales, han sido la mejor y prácticamente única opción terapéutica conocida y aplicable, hasta que en los principios del siglo XX el desarrollo en el mundo de la química dio paso a la aparición de nuevos medicamentos, mediante procesos de extracción y purificación del contenido en principios activos de las plantas, así como obtenidos por síntesis en laboratorio inspirándose en ellos. (Berdonces, 2003).

De esta manera, se han desarrollado desde entonces medicamentos con dosis bien conocidas, en un formato mucho más ventajoso para su administración y con mayores garantías de seguridad y eficacia, lo que ha supuesto un gran éxito. No obstante, un tiempo después de su uso y actualmente, sigue existiendo la necesidad de encontrar terapias más respetuosas con el medio ambiente, con menos efectos secundarios, y que logren reducir al máximo la aparición de resistencias en los agentes que se pretenden combatir (Callies, 2011). La fitoterapia, también de base química, muestra una tendencia positiva en su uso al considerarse una terapia natural, así como por evidenciarse cada vez más como una terapia de calidad y eficacia, gracias a los avances en el conocimiento científico que se tiene sobre las drogas vegetales y de sus derivados (Cañigueral, 2002).

En cualquier caso, queda mucho por estudiar. Los fitofármacos suelen contener habitualmente diferentes constituyentes o compuestos con actividad farmacológica que puede ser específicamente conocida en la planta en particular o no, lo que hace de la fitoterapia integral un sistema complejo respecto al aislamiento de sustancias puras (naturales o sintéticas), ya que de una misma planta pueden obtenerse extractos que derivarán en medicamentos con múltiples acciones normalmente sinérgicas en el organismo. Hoy en día el avance en las distintas tecnologías de estandarización y homogenización de extractos, ha permitido que el reto de la dosificación pueda suponer un hito alcanzable; dado que en cada planta es posible encontrar distintas concentraciones de determinados principios activos de interés según su método de cultivo, recolección, conservación, preparación galénica, etc., es de vital importancia el avance de la ciencia en estos campos. De tal manera que, debido a que las plantas pueden contener sustancias tanto medicinales como tóxicas y/o alergénicas, es conveniente analizar y comprobar

previo a su utilización, su calidad, seguridad y eficacia mediante los correspondientes análisis que así lo garanticen (Cañigueral, Dellacassa y Bandoni, 2003).

En lo que respecta a la medicina veterinaria, ha resultado de gran utilidad para el descubrimiento y estudio de las propiedades de las plantas medicinales la observación del comportamiento de los animales en la naturaleza, pues en este contexto se ha comprobado que ingieren selectivamente las plantas de su alrededor en función de las propiedades que éstas puedan ofrecer en beneficio de la salud y, por consiguiente, la demanda de determinados compuestos a través de la dieta es satisfecha por los animales durante el pastoreo (Villalba et al., 2014). Así, se ha podido constatar que, por ejemplo, animales con problemas respiratorios recurrían a la ingesta de hojas de plantas balsámicas como el eucalipto, y plantas con altos contenidos de taninos como la encina en el caso de afecciones digestivas y/o de parasitos gastrointestinales (García Romero, 2008).

Respecto a la coccidiosis en rumiantes, recientemente se ha estudiado de forma exitosa para su tratamiento opciones basadas en el uso de plantas, evitando así el uso de las drogas convencionales de síntesis. Por ejemplo, se ha comprobado que los taninos condensados, presentes en altos niveles en determinadas plantas como el roble o el pino, son capaces de reducir los recuentos de ooquistas en cabras en un 85% y hasta un 93% tras 10 días de administración (Hur, Molan y Cha, 2005). También se ha estudiado exitosamente la cúrcuma (*Curcuma longa*) como un potencial anticoccidial que no sólo ha demostrado reducir la carga parasitaria, sino que también parece que combate los estragos que pudieran llegar a causar, como son el estrés oxidativo o las lesiones intestinales. Esto denotó notorios incrementos en el peso diario de los animales tratados frente a los no tratados al probarse en condiciones controladas (Cervantes Valencia et al., 2016).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Este estudio experimental nace de una creciente necesidad de buscar alternativas a los medicamentos de síntesis química. Esto se ve motivado en su mayor parte por los posibles efectos secundarios tras su utilización, la preocupación por los residuos medicamentosos en los alimentos, y la frecuente aparición de resistencias a los antimicrobianos (Cervantes-Valencia, 2016), así como por su baja compatibilidad con el medio ambiente (Castro y Verbel, 2011), por lo que cada vez más consumidores desconfían de ellos y demandan alimentos producidos sin ningún riesgo de contener residuos químicos. Además, el desarrollo de nuevas drogas supone cada vez unos mayores costes (Hur, Molan y Cha, 2005).

Dentro de los cada vez más frecuentes y relevantes efectos secundarios notificados en el ser humano derivados del consumo de fármacos de síntesis química, se podrían incluir daños cardiovasculares, problemas digestivos, alteraciones nerviosas o incluso la muerte (Tirado et al., 2001; Puche Cañas y de Dios Luna, 2006). Además, existe una especial preocupación por la resistencia desarrollada a los llamados medicamentos antimicrobianos (Cervantes Valencia, 2016).

El sector de la producción de rumiantes no es una excepción. Existe una gran preocupación por esta problemática, y se trabaja cada vez más en la búsqueda de nuevas formas de prevenir y/o tratar sus posibles enfermedades, así como potenciar el rendimiento productivo de los animales (Giannenas et al., 2013).

Respecto a la coccidiosis y su control desde el punto de vista veterinario, también se describe la existencia de resistencias a los anticoccidiales, las cuales deben ser consideradas a la hora de escoger un tratamiento (Reina et al., 2011). Así mismo, está suficientemente evidenciado que la coccidiosis, dada la inmunosupresión y los cambios en la permeabilidad e integridad intestinal que supone para los animales entre otros aspectos, da lugar con frecuencia a patologías concomitantes provocadas por otros microorganismos oportunistas como bacterias y/o virus. Esto último, además de la merma de peso de los animales, es una de las mayores causas de pérdidas económicas debidas a la patología, por lo que es importante que el tratamiento a utilizar pueda combatirlos con eficacia (Andrews, 2013).

La fitoterapia actual entra en juego como una alternativa viable y, posiblemente, beneficiosa, habiendo sido la terapia tradicional utilizada mucho antes de la reciente aparición de los medicamentos de síntesis. Esta disciplina obtiene todo de la naturaleza, la mayor fuente de salud con la que cuenta el ser humano, y la aprovecha en todos sus aspectos. No sólo hace frente a los agentes causales de enfermedad, sino que también contribuye a potenciar el funcionamiento del organismo, así como a mejorar la respuesta defensiva del mismo, que ya cuenta con múltiples estrategias que interesa reforzar, de manera que se ejerce una menor presión selectiva sobre los microorganismos. Además, el uso de plantas medicinales puede reducir los efectos secundarios esperables, ya que sus componentes se encuentran en un equilibrio más acorde a los mecanismos interrelacionados que se dan durante un proceso patológico, siendo más fácilmente asimilables por el organismo (Equipo Tikal, 2010). En definitiva, su eficacia radica en hacer frente a la enfermedad desde una perspectiva más amplia, saludable, y natural (Cañigueral, Dellacassa y Bandoni, 2003).

El desarrollo de disciplinas tan importantes como la farmacognosia, suponen el estudio de las distintas variables que se deben tener en cuenta a la hora de realizar procesos como la extracción, estabilización, homogeneización, estandarización, etc. a las que tiene que ser

sometida una planta para llegar a convertirse en un extracto medicinal (Valliammai, Deepak Ashwin y Sivachandran, 2020). El estudio de las drogas vegetales para su uso en la industria farmacéutica con fines terapéuticos tiene la misma raíz científica para un medicamento de plantas que para un medicamento basado en la síntesis o semisíntesis de un compuesto que pueda encontrarse previamente en la naturaleza y que se quiere obtener de manera purificada como molécula. Los extractos de plantas también pueden ser una sola molécula final, como en el caso de los extractos de ácido glicirricínico extraídos de la corteza del regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) (Hussain et al., 2017).

Es importante recalcar que, a diferencia de lo que ocurre en el ser humano, los medicamentos usados en la medicina veterinaria no sólo se orientan a tratar la enfermedad, sino que también llegan a ser aplicados a modo de profilaxis o metafilaxis, como es el caso del decoquinato (Rossanigo, 2007). Por esta razón, y ya que la prevención es su mayor cometido, la aplicación de la fitoterapia en la medicina veterinaria es merecedora de ser estudiada en profundidad.

En el presente estudio realizado a nivel de campo, ambos tipos de terapias mencionadas son enfrentadas con el fin de combatir la coccidiosis en corderos de cebo, una patología de relevancia económica. En relación al pienso de los animales como base de aplicación de cada tratamiento, el producto fitoterápico se aplica en un pienso ecológico para poder facilitar mediante su uso la ausencia de residuos químicos en los alimentos de origen animal obtenidos. Así mismo, con respecto al interés de su aplicación en la producción ecológica, la fitoterapia se establece como una opción terapéutica preferente frente a otros tratamientos alopáticos de síntesis y antibióticos, siempre que demuestre un efecto terapéutico eficaz para el tratamiento y especie en cuestión, de acuerdo con el Artículo 24 del Reglamento (CE) 889/08 de la Comisión Europea, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control.

Los objetivos del presente estudio son, por tanto:

- a. Comprobar la eficacia y ventajas del uso de plantas medicinales en la prevención de la coccidiosis, comparando los efectos de los productos utilizados respecto al control de los recuentos de ooquistes en heces, con especial atención al producto comercial fitoterápico.
- b. Analizar los efectos de los productos y de la carga parasitaria sobre la respuesta inmunitaria de los corderos.

- c. Estudiar el rendimiento productivo de un pienso convencional frente a uno ecológico, valorando su consumo e índice de conversión. Conocer si existen diferencias en los crecimientos de los animales tratados respecto a sus grupos control.

4. METODOLOGÍA

4.1. Formación de lotes

Los lotes se compusieron de corderos entrefinos recién destetados de aproximadamente 45 días de edad, que pasaban a la fase de cebo. A la hora de distribuir los animales de la forma más homogénea posible, se seleccionaron aleatoriamente los animales en función de edad, sexo, peso y tipo de parto del que procedían (simple o múltiple).

Los animales fueron pesados, seleccionando los corderos que se encontraban en un rango de entre 12,0 y 16,0 kg de peso vivo. Al mismo tiempo que se realizaba esta operación, se separaron por sexos, se comprobó en la hoja de registros su edad y tipo de parto del que procedían y se fueron introduciendo en los lotes de una manera equitativa, hasta conseguir 12 corderos en cada lote, obteniendo un total de 48 animales entre los 4 lotes formados, con una media de 13,98 kg de peso vivo por lote (tabla 1).

Lote A1												
CROTAL	2926	2938	2959	2998	3000	3006	3010	3012	3015	3028	3071	3093
PESO	13	15	14	13,6	14,5	13,5	12,4	12	14	13,2	14,8	15,8
SEXO*	M	H	H	M	M	H	H	M	M	H	H	M
PARTO**	D	D	D	D	D	S	D	S	S	D	S	S
Lote A2												
CROTAL	2950	2961	2986	2987	2992	3021	3022	3024	3030	3055	3080	3083
PESO	14,5	15,5	13	13,5	14,7	15,5	13,2	13,4	13,5	14	12,4	15,1
SEXO*	H	H	H	H	H	M	M	M	H	M	M	M
PARTO**	S	S	D	D	S	D	D	D	D	S	S	S
Lote B1												
CROTAL	2943	2969	2973	2980	2994	2997	3013	3016	3044	3048	3108	3117
PESO	14,2	15,5	14,7	13,5	13,5	13,5	15,9	12,8	14,5	13,7	12,8	12,5
SEXO*	H	M	H	H	M	H	H	M	M	M	H	M
PARTO**	D	S	S	D	S	D	S	S	T	D	S	D
Lote B2												
CROTAL	2903	2912	2933	2988	3002	3005	3036	3037	3042	3068	3088	3095
PESO	15	14,6	14,4	14,6	14,2	13,5	13,8	12,5	12,6	13,5	13,4	15,6
SEXO*	M	H	H	M	M	M	H	H	M	H	M	H
PARTO**	S	D	D	S	D	S	D	D	D	D	S	S

Tabla 1. Conformación inicial de los lotes a estudiar. *H= hembra; M= macho. ** S= parto simple; D= parto doble; T= parto triple.

El número de corderos por lote se estableció en base al número mínimo de animales que pudiera considerarse estadísticamente significativo y útil de cara a los resultados del estudio, teniendo en cuenta además la cantidad de corderos disponibles en la explotación comercial que cumplieran los requisitos de edad, peso, sexo y tipo de parto establecidos en el momento de su comienzo.

4.2. Condiciones de los lotes en estudio

Una vez realizado el reparto de los animales, se asignaron diferentes letras para su seguimiento posterior, siendo:

Lote A1: Lote alimentado con pienso convencional sin decoquinato.

Lote A2: Lote alimentado en base a pienso convencional con decoquinato, habitual en la granja.

Lote B1: Lote alimentado con pienso ecológico.

Lote B2: Lote alimentado en base a pienso ecológico con producto comercial fitoterápico.



Figuras 5 y 6. Condiciones de los lotes en estudio.

Los animales se colocaron en la misma nave de cebo, pero en cubículos experimentales preparados para este fin y separados según su tratamiento, con agua y paja a libre disposición (figuras 5 y 6). Estas condiciones se mantuvieron durante los 21 días de duración del ensayo. Semanalmente se tomaron muestras de heces y sangre en las semanas 0, 2 y 3 para los análisis correspondientes. También se pesó una vez por semana a los animales, así como la cantidad de pienso restante, para calcular los consumos del mismo y la ganancia de peso de los animales y su índice de conversión.

4.3. Materiales utilizados

A continuación, se describen los compuestos utilizados y enfrentados en las dietas de los animales, que son clave en el desarrollo de este estudio.

4.3. 1. Productos terapéuticos a emplear en el pienso

a. Coccidiostato: Decoquinato

El decoquinato es un fármaco de síntesis perteneciente a la familia de las quinolonas. Este grupo de medicamentos es más conocido y ha sido ampliamente utilizado por su capacidad antimicrobiana, pues se ha demostrado que actúan inhibiendo enzimas esenciales para la multiplicación bacteriana, las topoisomerasas II (Monteagudo et al., 2007).

El decoquinato, no obstante, se utiliza como coccidiostático en la medicina veterinaria, desarrollándose inicialmente en 1967 para intentar controlar esta parasitación en aves de corral. Hace aproximadamente tres décadas comenzó a aplicarse en los rumiantes (Taylor y Bartram, 2012).

Este medicamento actúa en cualquier etapa del coccidio, ya que lo hace sobre el metabolismo mitocondrial, inhibiendo el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa (Sayago et al., 2004). También se describe su posible papel de coccidiostático mediante la inhibición de la esporulación del coccidio (Monteagudo et al., 2007). Para su uso en corderos como preventivo y/o a modo de tratamiento, es común su administración durante el período de cebo a todos los animales, en forma de premezcla medicamentosa en el pienso a una dosis de entre 0,5 y 1 mg por cada kg de peso vivo durante al menos 28 días, sin tiempo de espera para ovino de carne, si bien no se autoriza su utilización en la producción de leche destinada a consumo humano (CIMA - Vet Medicamentos Veterinarios, 2020).

Cabe advertir que el tratamiento con decoquinato no debe ser interrumpido, ya que durante el mismo se impide el desarrollo del sistema inmunitario de los animales. De ser así, podrían tener lugar brotes clínicos de la enfermedad (Rojo-Vázquez et al., 2011; Sánchez Acedo et al., 2013).

Por otro lado, y a largo plazo, el uso continuo de los anticoccidiales ha derivado en tratamientos poco efectivos contra algunas especies de *Eimeria*, basados en el desarrollo de resistencias que ya se han descrito en aves de corral, si bien es cierto que en los rumiantes la presión selectiva resulta menor al llegar a darse tratamientos de una forma más discontinua (Taylor y Bartram, 2012).

En definitiva, es un producto que resulta de aplicación cómoda y eficaz en la reducción de la excreción de ooquistes y el tratamiento de casos clínicos, aumentando de manera considerable la ganancia de peso de los animales y, por tanto, su rendimiento económico, interés último de la prevención y control de la coccidiosis (Chartier y Peraud, 2012).

b. Fórmula herbal comercial con extractos de plantas medicinales

En el presente estudio se pone a prueba a modo de preventivo y/o curativo, un producto herbal comercial presentado en polvo que está formulado en base a los extractos y esencias naturales obtenidos de tres plantas, de cuyos efectos se espera una sinergia eficaz contra la coccidiosis. Estas tres plantas son el escaramujo (*Rosa canina*), el regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) y la caléndula (*Calendula officinalis*), que se describen más detalladamente a continuación.

Rosa canina (Escaramujo)

La rosa canina o escaramujo es el fruto del rosal silvestre, que pertenece al género *Rosa*, de la familia *Rosaceae*. Se trata de un arbusto con tallos y hojas verdes imparipinnadas, y con espinas que se asemejan a los colmillos de un perro, de donde adopta el apellido “*canina*” (Ayerbe y García, 2010). Las flores son de 5 pétalos y tienen un color de rosa claro a blanco. Esta especie puede encontrarse en caminos, bosques y montes de Europa y Asia central (Hensel, 2008) (figuras 7 y 8).

El fruto, llamado escaramujo o tapaculos, es carnoso, de una forma estrecha y ovalada y de un color rojo brillante, que suele conservarse desecado. Este es conocido y principalmente aprovechado por su alto contenido en vitamina C (hasta un 1%), que le confiere una gran propiedad antioxidante, siendo también ricos en carotenos, vitaminas del complejo B, azúcares, pectinas, taninos y ácidos málico y cítrico (Matos Gesteira et al., 2008; Equipo Tikal, 2010). Se le atribuyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiulcerosas, probióticas, antimutagénicas y antimicrobianas, entre otras, que potencian la resistencia del organismo a la enfermedad (Chrubasik et al., 2008). En concreto, los taninos y pectinas de esta planta ejercen una acción cicatrizante y astringente, por lo que su aplicación como antidiarreica es bien conocida, haciéndola merecedora del nombre “tapaculos” (Matos Gesteira et al., 2008; Ayerbe y García, 2010).



Figuras 7 y 8. Imágenes de *Rosa canina*. Fuentes: figura 7 obtenida de Centro Campillo, 2017 .

Disponible en <https://centrocampillo.wordpress.com/2017/08/17/rosal-silvestre-rosa-canina/>.

Figura 8: imagen propia.

Todas estas propiedades hacen del escaramujo una planta altamente potenciadora de la resistencia del organismo frente a la enfermedad (Ayerbe y García, 2010).

Glycyrrhiza glabra (Regaliz)

El regaliz, regalicia o paloduz, pertenece a la familia de las fabáceas o leguminosas. Es una planta herbácea vivaz que procede de Europa meridional y de Oriente, con un tallo que da ramas con hojas imparipinnadas, de cuyas axilas nacen sus flores en racimo de un color violáceo (Hensel, 2008) (figura 9).

En su raíz se encuentra el gran interés farmacológico por esta planta, que es desenterrada al tercer año de cultivo y secada, para obtener así de ella el regaliz. Se compone de rizomas leñosos, de color amarillento en su interior y con un sabor dulce (Equipo Tikal, 2010). Su principal componente activo es la glicirrina, que se describe como mucolítica y antiinflamatoria sobre la mucosa gástrica, resultando de gran eficacia en el tratamiento de afecciones respiratorias y digestivas (Siedentopp, 2008). También contiene glucósidos del grupo de las flavonas, saponinas, aceite esencial, taninos y enzimas. (Equipo Tikal, 2010).

La atribución de propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes a esta planta, demostradas recientemente en la lucha frente a diversas especies de *Eimeria* (Hussain et al., 2017), la convierte en una potencial candidata en la búsqueda de una alternativa natural frente a la infección por coccidios.

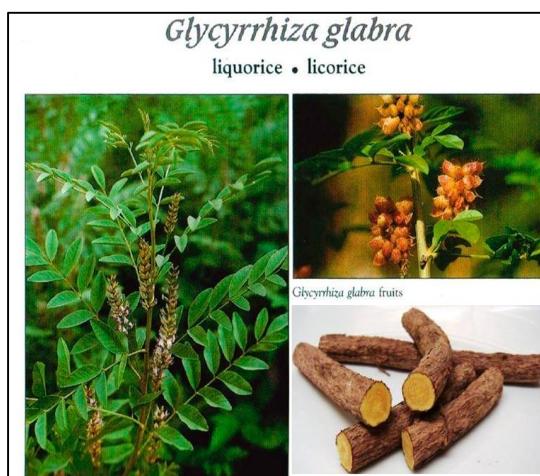


Figura 9. Imágenes de *Glycyrrhiza glabra*. Planta con flores, frutos y raíces, de las que se obtiene el regaliz. Fuente: obtenidas de <https://www.dieteticaonline.es/blog/usos-medicinales-del-regaliz-glycyrrhiza-> [Consultado el 27/04/2020].

Calendula officinalis (Caléndula, Maravilla)

La caléndula o maravilla es una planta de la familia de las Asteráceas. Puede encontrarse en Europa y el oeste de Asia y su origen no se conoce con certeza, aunque sí se sabe su cultivo desde la Edad Media como medicinal y ornamental. Y es que se trata de una planta herbácea muy vistosa, con hojas oblongas y flores con lígulas que van desde amarillas hasta anaranjadas (Hensel, 2008) (figuras 10 y 11). Las flores, y en particular las de este color anaranjado, son las que contienen una mayor concentración de sustancias activas, entre las que se encuentran una amplia variedad de ácidos fenólicos, flavonoides y saponinas entre otros (Butnariu y Coradini, 2012).

Se le atribuyen grandes propiedades antiinflamatorias (Preethi y Kuttan, 2009b), así como potentes efectos cicatrizantes cuando se aplica de forma tópica (Preethi y Kuttan, 2009a). También estimula la actividad hepática y secreción biliar, y es espasmolítica estomacal e intestinal (Equipo Tikal, 2010). Se trata de una planta con gran y creciente interés en la industria y cada vez más estudiada, de la que se describe incluso su eficacia como antibiótico y antimicótico, con resultados excelentes en pruebas frente al Fluconazol, un antimicótico muy utilizado en la medicina actual (Efstratiou et al., 2012).



Figuras 10 y 11. Imágenes de *Calendula officinalis*. Fuentes: figura 11 obtenida de Ecoagricultor, 2016. Disponible en <https://www.ecoagricultor.com/plantas-medicinales-cultivo-y-usos-de-la-calendula/>. Figura 12 obtenida de Bissanti, G. (2017). *Calendula officinalis*. Disponible en <http://antropocene.it/es/2017/05/20/calendula-officinalis/>.

La suma de efectos esperada radica, entre otras muchas propiedades, en la gran capacidad antiinflamatoria y cicatrizante de la caléndula frente a las lesiones intestinales producidas por los coccidios, la potenciación del sistema inmune por parte del escaramujo y la inmunomodulación y efecto antioxidante del regaliz para hacerles frente. Se desea comprobar

que esta mezcla herbal pueda ser efectiva en la misma o mayor medida que los compuestos químicos de síntesis utilizados en la actualidad.

4.3.2. Piensos administrados

En el estudio se emplean dos piensos similares, que fueron fabricados en lugares diferentes para la adición del decoquinato y/o del producto fitoterápico según procediera (figura 12).



Figura 12. Sacos de los 4 piensos diferentes utilizados en el estudio.

a. Pienso convencional

Este pienso hace referencia al utilizado normalmente en la granja en la que se realiza el estudio. Dentro de este se incluyó el pienso con y sin el decoquinato de los lotes A (figuras 13 y 14).

Figuras 13 y 14. Etiquetas del pienso convencional, correspondientes al pienso del lote A1 y A2, respectivamente. Fuente: figura 13 obtenida de Agroveco. Disponible en <https://www.agroveco.com/wp-content/uploads/2019/04/cadecor-1.pdf> La figura 14 es una foto propia.

b. Pienso ecológico certificado

Se trata de un pienso similar en ingredientes al anterior, pero estos proceden de agricultura ecológica. Se utilizó en los lotes B, siendo el pienso escogido para la administración del producto fitoterápico (figuras 15 y 16).



Figura 15. Etiqueta del pienso ecológico junto con el producto herbal.

Fuente: Cedida por Cerereales Montoya S.L., disponible en www.herbalucat.es.



Figura 16. Administración de pienso ecológico en uno de los lotes B.

A fin de comprobar sus posibles efectos sobre el crecimiento de los animales, ambos piensos se compararon en vistas a las ganancias de peso obtenidas durante el tiempo de estudio, teniendo en cuenta el consumo de los mismos por parte de los animales para relacionarlos además con su índice de conversión.

4.4. Toma de muestras y registro de datos

A continuación, se detallan las muestras obtenidas durante el estudio, así como las técnicas empleadas para ello, a fin de recolectar datos suficientes en relación a diversos aspectos de interés que se discutirán más adelante.

a. **Heces:** las muestras se recogieron con los animales en estación, del tramo final del recto en bolsitas individuales para cada animal que posteriormente fueron debidamente diferenciadas e identificadas con el número de crotal del animal y lote al que pertenece. Tras la recogida, se refrigeraron en nevera portátil y se enviaron inmediatamente al laboratorio para su estudio. Esta toma de muestras se realizó una vez por semana (figura 17).



Figura 17. Recogida de muestras de heces.



Figura 18. Recogida de muestras de sangre.

b. **Sangre:** con un sistema de vacío (Vacutainer) y mediante venopunción yugular, se recogieron un tubo con EDTA y un tubo sin anticoagulante por cada animal, que fueron debidamente identificados con el número de crotal del cordero y lote de procedencia. Esta muestra se recogió en las semanas 1, 3 y 4 (figura 18).

c. **Peso:** se registró semanalmente el peso individual de los animales, así como la cantidad de pienso restante en comederos y sacos de pienso respecto a la cantidad inicial ofrecida a los animales, a fin de obtener datos acerca del crecimiento de los animales e índices de conversión de cada dieta ofrecida (figura 19).



Figura 19. Registro de pesos.

4.5. Procesado de las muestras

a. Exámenes coprológicos

Las muestras de heces fueron enviadas a un laboratorio de la empresa Exopol, Diagnóstico y Autovacunas, donde todas ellas fueron sometidas a un examen coprológico cualitativo mediante la técnica de sedimentación y flotación en sulfato de zinc. Tras una observación a microscopio para la detección de ooquistas de protozoarios, huevos de nematodos, huevos de cestodos o huevos de trematodos, se realizó un examen cuantitativo mediante el método de McMaster en aquellas muestras positivas a *Eimeria*.

Las técnicas de flotación y sedimentación son dos técnicas cualitativas que se utilizan de forma sistemática y complementaria en los estudios coprológicos laboratoriales. Estas consisten, como bien indica su nombre, en concentrar los huevos, larvas o quistes por sedimentación o flotación en la superficie de un líquido de una densidad superior a los mismos, no excesiva, a fin de separarlos del resto de componentes presentes en las heces o bien evitar dañar los parásitos. Se emplea una solución de sulfato de zinc al 33% con el fin de hacer flotar a los parásitos gastrointestinales y coccidios y así diferenciar la parasitación, si bien es cierto que los corderos en cuestión habían nacido en la misma granja y no habían contactado con el campo, por lo que no es posible encontrar en ellos determinados parásitos digestivos, pulmonares o hepáticos (Serrano Aguilera, 2010) (figuras 20, 21 y 22).



Figuras 20, 21 y 22. Vista a microscopio óptico de ooquistes esporulados de las especies *E. intrincata*, *E. ovinoidalis* y *E. parva*, respectivamente. Imágenes cedidas por Juan Antonio Castillo, catedrático de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

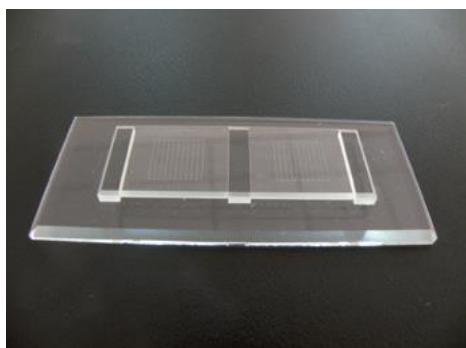


Figura 23. Cámara McMaster. Fuente: *manual práctico de parasitología veterinaria* (Serrano Aguilera, 2010).

El método de McMaster es el utilizado para conseguir una valoración cuantitativa aproximada de la carga parasitaria presente en las heces. En este caso, se realiza un conteo del número de ooquistes de *Eimeria* presentes por gramo de heces que se han concentrado en la superficie gracias a la técnica de flotación utilizando iodomercuriato y leídos en una cámara de McMaster, diseñada para este propósito (Figueroa-Castillo et al., 2015). Los números obtenidos en esta prueba suelen correlacionarse con

la significación clínica en el caso de los coccidios, aunque no se puede dar siempre como norma fija, pues la presencia de ooquistes en las heces no implica necesariamente enfermedad (Reina et al., 2011) (figura 23).

b. Muestras de sangre:

Se parte de muestras de sangre individuales tomadas en tres ocasiones (semanas 1, 3 y 4), y colectadas en tubos con sistema de vacío (Vacutainer™) con y sin anticoagulante (EDTA) (figura 19). Se realizaron extensiones sanguíneas y se separó el suero sanguíneo, guardándolo en viales congelados a -18°C para el posterior análisis de inmunoglobulinas.

Los frotis sanguíneos se realizaron mediante la extensión de una gota de sangre entera en un portaobjetos, que posteriormente se dejó secar y se pasó por una tinción rápida Diff-quick para su observación al microscopio óptico. De este modo, se pudo identificar y contar las células de la serie blanca, estableciendo sus valores porcentuales en búsqueda de una correlación entre la carga parasitaria de los animales y una posible eosinofilia. Esta búsqueda se basa en su importante participación en la respuesta inmune, en la manifestación eosinofílica demostrada en otras infestaciones parasitarias (Escribano, 2019), además de en el aumento de los recuentos hematológicos de eosinófilos en animales primoinfectados con el género *Eimeria*, ya demostrado en pollos, ratones y pavos primoinfectados con diferentes especies de *Eimeria* (Matos Guedes, 2015).

Respecto al estudio de las inmunoglobulinas, se desea determinar los niveles de IgG e IgA, involucradas como marcadores en la inmunidad general y específica frente a parásitos (Matos Guedes, 2015; Escribano, 2019). Esto permite conocer el estado inmunitario de los animales, lo que puede resultar de gran interés, puesto que se espera que el producto fitoterapéutico puesto a prueba logre fortalecerlo. De hecho, ya existen estudios con otras especies que demuestran la capacidad de refuerzo de la inmunidad frente a *Eimeria* a través de la fitoterapia (Ullah et al., 2018). Además, se sabe que la citotoxicidad mediada por anticuerpos es el mecanismo de inmunidad más eficaz que el organismo elabora frente a *Eimeria* (Sánchez Acedo et al., 2013).

El papel de la inmunidad en el desarrollo de la coccidiosis es clave. Hasta las 3-4 semanas de edad, los animales no suelen verse afectados dado al papel protector de los anticuerpos calostrales. Por otro lado, los animales adultos son resistentes a la enfermedad tras haber superado la infección (Sánchez Acedo et al., 2013).

Debe tenerse en cuenta que el decoquinate utilizado durante el cebo interfiere y limita el desarrollo de la inmunidad (Rojo-Vázquez et al., 2011). Por otro lado, existen estudios que sugieren que niveles bajos de oocistos son capaces de generar inmunidad en cierta medida (Chartier y Paraïd, 2012), incluso haciendo uso de determinados productos coccidiocidas (Taylor et al., 2011).

4.6. Análisis estadístico de los datos

Respecto a los datos obtenidos, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para demostrar la homogeneidad inicial de los grupos y entre ellos, y el análisis de varianza ANOVA de medidas repetidas para estudiar diferencias entre variables continuas respecto a pesos, consumos de pienso y recuentos de ooquistes. Para el análisis estadístico se utilizó el programa JMP 9 (SAS Institute, EE.UU.).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a que los animales alcanzaron el peso comercial de venta antes de lo esperado, el ensayo finalizó una semana antes de lo previsto, quedando con una duración de 3 semanas.

a. Ganancia Media Diaria (GMD)

La GMD se calculó con los datos obtenidos de las medidas repetidas. El análisis de los resultados obtenidos mostró diferencias significativas ($p<0,05$) de los lotes A con respecto al lote B1. Sin embargo, los lotes alimentados con pienso convencional (lotes A1 y A2) obtuvieron promedios mayores de GMD que los alimentados con el pienso ecológico (lotes B1 y B2), con una media de 0,28 kg y 0,27 kg en los lotes A1 y A2 respectivamente y 0,22 kg en el lote B1. El lote B2, con un valor medio de 0,24 kg, no mostró diferencias significativas respecto a ningún otro lote.

En una comparación semanal de las GMD, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre lotes, salvo en el período comprendido entre el día 7 y el 14 (2^a semana), en el que los GMD fueron significativamente mayores ($p=0,0259$) en los lotes alimentados con pienso convencional respecto a los alimentados con el ecológico. No obstante, no hubo

diferencias significativas respecto a la aplicación de tratamientos coccidiostáticos o no ($p>0,05$).

Estos resultados sugieren que los animales alimentados con el pienso convencional obtuvieron un rendimiento algo mayor en la ganancia de peso respecto al ecológico, y que el tipo de tratamiento de cada lote no influyó en este caso en la misma (figura 24 y tabla 2).

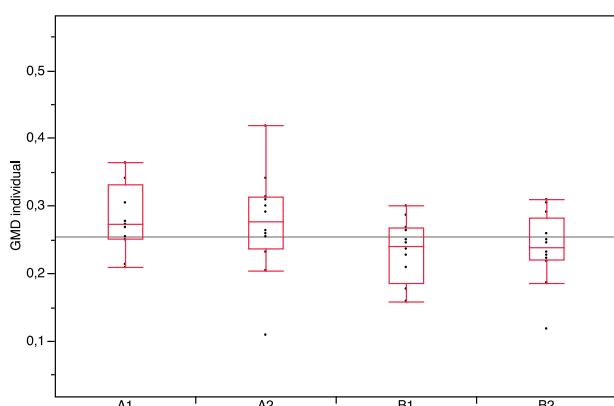


Figura 24. GMD individuales según el lote considerado.

Lote	n	Media de GMD/lote (kg)	Desviación Estándar	Intervalo de confianza (95%)	
				Mínimo	Máximo
A1	12	0,282576 ^a	0,051748	0,24348	0,32167
A2	12	0,274621 ^a	0,075997	0,23553	0,31372
B1	12	0,217803 ^b	0,082560	0,17871	0,25690
B2	12	0,238636 ^{ab}	0,052849	0,19954	0,27773

a≠b (p<0,05)

Tabla 2. Relación entre GMD y lotes definidos.

A pesar de ello, las medias de pesos alcanzadas no mostraron diferencias significativas entre lotes ($p>0,05$), como se ilustra a continuación (figura 25).

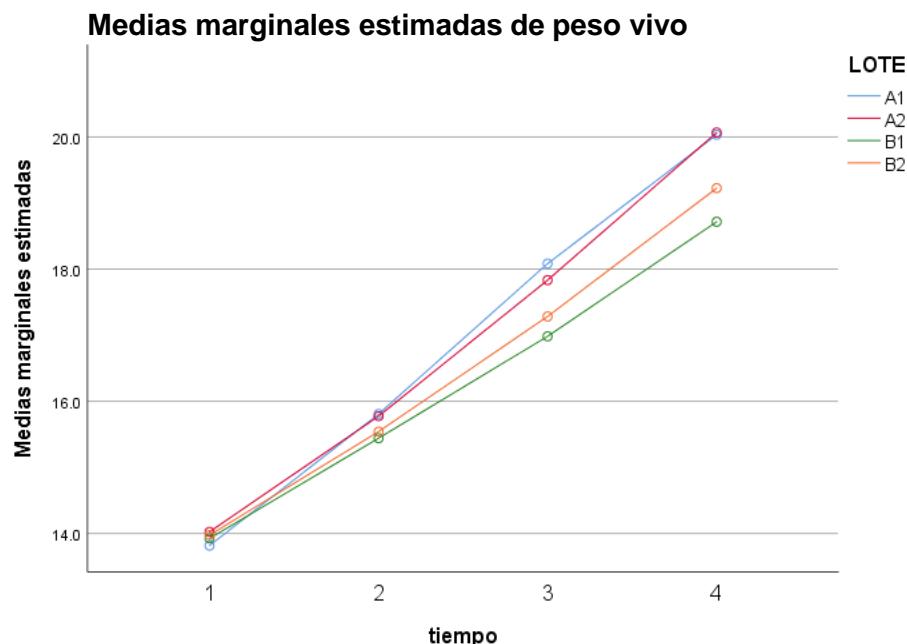


Figura 25. Gráfico de las medias marginales estimadas de peso vivo.

b. Consumos de pienso e índices de conversión

Respecto al consumo de pienso por parte de los animales, si bien se dieron variaciones significativas semanales y entre lotes (figura 26), no se encontraron diferencias significativas en las medias de ingesta total de pienso consumidas por lote ($p>0,05$) al final del estudio (tabla 3). La cantidad de datos disponibles no resulta suficiente como para obtener valores representativos en relación con el consumo de pienso entre lotes al no ser medidas individuales por animal, como se muestra en las desviaciones estándar algo elevadas que se han calculado.

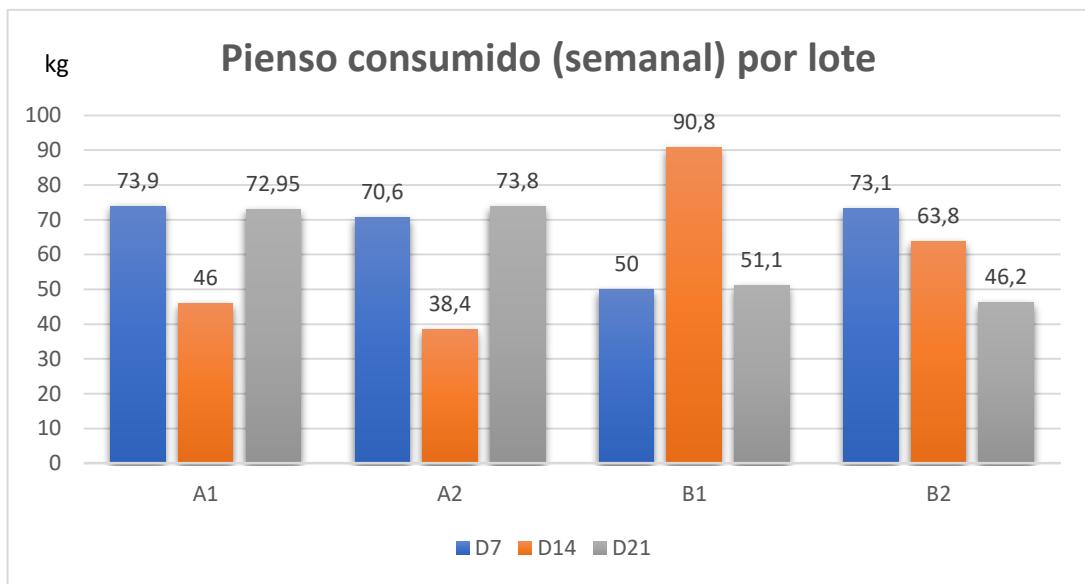


Figura 26. Pienso consumido semanalmente por lote.

Lote	n	Media de pienso ingerido/semana (kg)	Desviación estándar	Intervalo de confianza (95%)	
				Mínimo	Máximo
A1	3	64,28 ^a	15,84	24,93	103,63
A2	3	60,93 ^a	19,58	12,29	109,57
B1	3	63,97 ^a	23,25	6,22	121,71
B2	3	61,03 ^a	13,67	27,10	94,97

a≠b (p<0,05)

Tabla 3. Datos sobre el pienso ingerido en cada lote por semana a lo largo de todo el estudio.

Respecto a los índices de conversión, estos fueron calculados con los datos de ingesta total de pienso y la diferencia de promedios de peso final e inicial de cada lote. Los resultados muestran unos IC aparentemente mayores en los lotes B, si bien en un estudio futuro deberían tomarse datos individuales (figura 27).

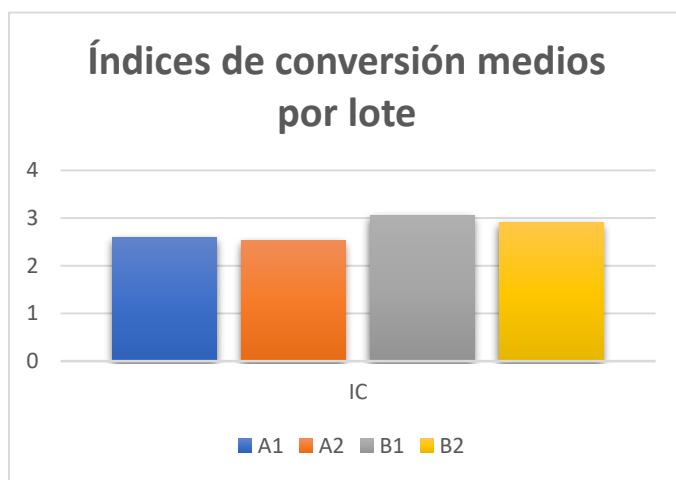


Figura 27. Índices de conversión (IC) medios por lote.

c. Evolución de la carga parasitaria

En lo que respecta a los recuentos de ooquistas, las medias aumentaron en ambos lotes control A1 y B1, incluso se podría decir que superaron el umbral establecido de infestación masiva de 5.000 ooquistas por gramo de heces, lo que no ocurrió en los grupos tratados. No obstante, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los cuatro lotes ($p>0,05$).

Respecto al lote B2, se observaron menores medias que en A2, pero en los días 0 y 7 el número de datos para B2 fue pequeño y tampoco se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$).

Lote	D0		D7		D14		D21	
	n	Media ± DE	n	Media ± DE	n	Media ± DE	n	Media ± DE
A1	3	133,3 ± 57,7 ^a	6	166,67 ± 81,6 ^a	6	5333,33 ± 4728,5 ^a	6	2813,17 ± 5491 ^a
A2	5	5200,0 ± 11236,3 ^a	4	307,50 ± 229,9 ^{ab}	6	3766,67 ± 4651,7 ^a	5	260,00 ± 114 ^a
B1		sin datos	2	1000,00 ± 1272,8 ^a	6	9383,33 ± 20601,2 ^a	4	150,00 ± 100 ^a
B2	2	100,0 ± 0 ^a	2	150,00 ± 70,7 ^{ab}	7	128,57 ± 48,8 ^a	5	2160,00 ± 2668 ^a

Entre columnas: a≠b ($p<0,05$)

Tabla 3. Resumen de los recuentos de ooquistas observados.

Al transformar logarítmicamente los datos para homogeneizarlos, se confirmó que no existen diferencias significativas de las cargas parasitarias entre los lotes A2 y B2 (figura 28).

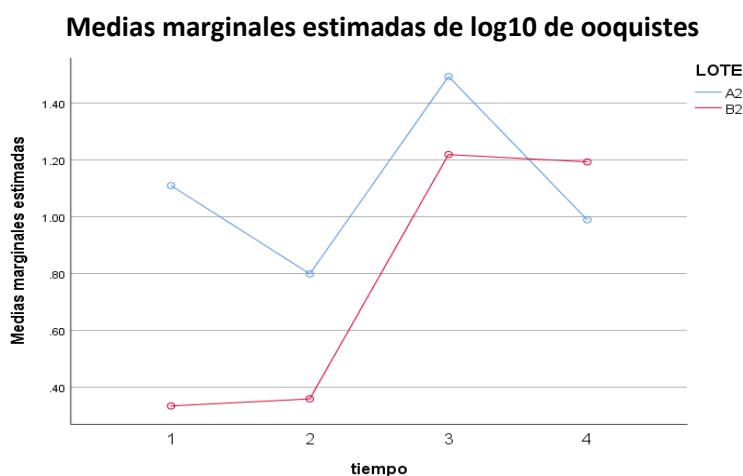


Figura 28. Medias marginales estimadas de log10 de los recuentos de ooquistas observados.

d. La respuesta inmunitaria

En cuanto al estudio de los frotis sanguíneos y recuento de células de la serie blanca en forma de percentiles, los resultados muestran que en ningún caso se establece la condición de eosinofilia. Por ello, en este trabajo, no es posible establecer una correlación entre la presencia de los protozoos del género *Eimeria* con el desarrollo de eosinofilia. Respecto al resto de células incluidas en la fórmula leucocitaria, si bien se observan casos de linfocitosis o neutrofilia, y si bien la respuesta de linfocitos T está implicada en gran medida en la inmunidad frente a la coccidiosis, estos no resultan tan específicos de un proceso parasitario y podrían atribuirse a otras numerosas causas (Matos Guedes, 2015).

En cuanto a las pruebas serológicas, por motivos derivados de la extraordinaria situación de pandemia mundial, tanto el envío de muestras como la recepción de los kits para la realización de las pruebas laboratoriales se ha retrasado en el tiempo. Este imprevisto, sumado a la saturación de los laboratorios, ha supuesto la imposibilidad de contar con los resultados a tiempo para poder incluirlos en el presente trabajo. Se espera poder contar con ellos más adelante para su consideración futura.

e. Discusión de los resultados obtenidos

El pienso convencional mostró rendimientos algo mayores que el ecológico, aunque no se encontraron diferencias entre los lotes tratados y no tratados, cuando está descrito que un producto de tratamiento eficaz como es el decoquinato consigue generalmente prevenir las pérdidas de peso vivo de los animales tratados, al reducir la carga parasitaria y así las lesiones intestinales y clínica asociadas (Taylor y Bartram, 2012). En cualquier caso, en su gran mayoría, los recuentos de ooquistas no superan concretamente en este estudio el umbral de sintomatología clínica de 10.000 ooquistas por gramo de heces (Fiel, Steffan y Ferreyra, 2011).

La ingesta total de pienso resultó similar en todos los lotes, aunque se encontraron variaciones entre ellos a lo largo del desarrollo del estudio. Esto nos hace pensar que hubiera sido conveniente contar con una mayor cantidad de mediciones y/o animales, ya que pudo haber algunos que por diferentes motivos ingirieron una menor cantidad de pienso en momentos determinados, y esto nos permitiría además valorar el índice de conversión de los piensos de una forma más precisa, como ya se ha realizado en otros estudios (Bello et al., 2013).

En cuanto a las cargas parasitarias observadas en los animales, las medias resultaron inferiores en los lotes tratados, aunque sin diferencias significativas entre ellos, resultados que son poco comunes en el caso del ampliamente estudiado decoquinato (Taylor y Bartram, 2012). Tampoco hubo grandes diferencias entre los dos tipos de tratamiento, lo que puede indicar que

el producto fitoterápico comercial es una alternativa viable al uso del decoquinato, que con estudios más amplios podría sumarse a otras ya sólidamente demostradas (Cervantes-Valencia, 2016).

En la granja estudiada, el decoquinato es administrado de forma preventiva debido a brotes de coccidiosis clínica en el pasado. Enlazando este hecho con los resultados obtenidos, esto podría sugerir que en esta granja los coccidios pueden haber desarrollado resistencias por su uso prolongado, si bien no hubo una coccidiosis clínica durante el desarrollo del estudio.

En cuanto al estudio hematológico, no se encontraron casos de eosinofilia, descrita como parte de la posible respuesta inmune frente a la enfermedad (Matos Guedes, 2015). No obstante, para el desarrollo de la misma hay que tener en cuenta que las cargas parasitarias encontradas fueron bajas, y que las especies de *Eimeria* involucradas en una coccidiosis pueden determinar la gravedad de la clínica, entre otros, al tratarse de una enfermedad multifactorial (González et al., 2002).

6. CONCLUSIONES

1. No se encontraron importantes diferencias entre los lotes tratados, de forma que el producto fitoterápico puede llegar a considerarse como una alternativa viable frente al decoquinato. Además, podría ofrecer otras ventajas a estudiar como la menor cantidad de efectos secundarios o la baja presión selectiva sobre los microorganismos a tratar.
2. Las medias de ooquistas excretados en las heces fueron inferiores en los lotes tratados frente a los grupos control, aunque sin diferencias significativas. Se observaron elevadas desviaciones y bajos números de datos en determinados lotes, que sugieren una necesidad de realizar mayor número de mediciones o de disponer de un mayor número de animales por lote.
3. Las medias de las ganancias de peso observadas en los distintos lotes resultaron algo mayores con el uso del pienso convencional frente al ecológico. No obstante, no se observó influencia de los tratamientos sobre las mismas.
4. El consumo total de pienso fue similar en todos los lotes, si bien se dieron variaciones entre semanas, a falta de datos de consumo individual. Los índices de conversión se mostraron mayores en los lotes con pienso ecológico frente al pienso convencional.

CONCLUSIONS

1. No important differences were found between the treated groups, so that the phytotherapeutic product can be considered as a viable alternative to the decoquinate. Moreover, it could offer other advantages to study, such as the less quantity of secondary effects or the low selective pressure over the microorganisms to be treated.
2. The mean oocysts excreted in the faeces were lower in the groups treated against the control groups, although without significant differences. High deviations and low number of data were observed in some groups, which suggests a need for more measurements or more animals per group.
3. The average weight gains observed in the different groups were a little higher with the use of the conventional feed against the ecological one. However, it was observed no influence due to the treatments.
4. The total feed consumption was similar in all the groups, although there were variations between weeks, as there was a lack of individual data. The conversion rates showed to be higher in the groups with ecological feed than in the ones with the conventional feed.

7. VALORACIÓN PERSONAL

El presente trabajo me ha servido para introducirme en el mundo de la fitoterapia, así como en el de la experimentación animal. Ambos campos me han suscitado un gran interés desde el comienzo de mi proyecto, y espero que todos los conocimientos obtenidos durante su realización sean de utilidad en mi futuro profesional.

Me ha resultado un estudio muy interesante, aunque desafortunadamente, las circunstancias han limitado en gran medida la obtención de algunos resultados con los que se deseaba contar. Considero, además, que este ha sido un estudio que ha abarcado una pequeña parte de lo que podría llegar a incluir, y que en vista de los resultados podría abrir puertas a investigaciones de mayor magnitud.

Debo mis enormes agradecimientos a la empresa APA-CT (Greenvet, fitoterapia veterinaria) por acceder a participar en este trabajo con su producto comercial para la coccidiosis, a Cereales Montoya (Piensos Ecolucat) y Boalvet, por la confianza depositada en mí para el desarrollo del presente estudio, a través de la aplicación del producto comercial en uno de sus prometedores piensos ecológicos herbales Herbalucat, de la línea de piensos Cokilucat. Doy gracias a Álvaro Miguel Fernández-Blanco, coordinador general y fundador de la empresa de servicios integrales Boalvet, por toda su ayuda aportada como coordinador técnico del

presente trabajo. También a la empresa EXOPOL, Diagnóstico y Autovacunas, por su eficaz gestión en el procesado de las muestras.

Además, este estudio no habría tenido lugar sin la colaboración de la explotación Montesa-Letosa-Marcen, en la que se ha desarrollado, especialmente a Pedro Jesús Montesa, así como del Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (S.C.R.U.M.), que una vez más ha recibido con brazos abiertos una nueva línea de investigación. En especial a Luis Miguel Ferrer, también tutor de mi trabajo, que junto con el profesor de la Escuela Superior Agraria de Bragança Helder Quintas, que ha aportado grandes y cruciales conocimientos estadísticos entre otros, me han ayudado en gran medida como tutores, apoyando y creyendo en mis ideas en todo momento, de forma que han podido hacerse una realidad. Al Dr. Manuel Delgado Pertíñez, profesor de Producción Animal de Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla, por su ayuda aportada para la estadística.

Por todo el seguimiento, consejos aportados y confianza depositada en mí y en él, doy gracias a todas las personas involucradas en la realización del presente trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Andrews, A.H. (2013). Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 110, pp. 93–95. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2012.11.01.

Agroveco. *Ficha técnica de producto: Cadecor 1 GS.* Disponible en <https://www.agroveco.com/wp-content/uploads/2019/04/cadecor-1.pdf> [Consultado el 3/09/2020].

Ayerbe, A.G., García, E.T., (2010). El escaramujo. Propiedades y uso terapéutico. *Medicina Naturista*, 4, pp. 42–52. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3142854.pdf> [Consultado el 20/05/2020].

Bello, J. M., Arroyo, G., Lavín, P., y Mantecón, Á. R. (2013). Variaciones en la respuesta productiva de corderos en cebo en condiciones prácticas de explotación: Efecto del peso vivo, sexo, genotipo y época. *Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. XXXVIII Jornadas Científicas de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)*, pp. 635-641. Disponible en <https://digital.csic.es/bitstream/10261/97900/3/Mantecon%2c%20A.%20R.%20%20et%20al>

[%20Variaciones%20en%20la%20respuesta%2038_jornadas_seoc%202013.pdf](#) [Consultado el 15/08/2020].

Berdonces, J.L. (2003). Historia de la fitoterapia. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, 21(3), pp. 142-152. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4956310.pdf> [Consultado el 18/05/2020].

Bissanti, G. (2017). “Calendula officinalis”. *Sostenible Eco Mundial*. Disponible en <http://antropocene.it/es/2017/05/20/calendula-officinalis/>. [Consultado el 3/09/2020].

Butnariu, M., y Coradini, C. Z. (2012). Evaluation of biologically active compounds from Calendula officinalis flowers using spectrophotometry. *Chemistry central journal*, 6(35). DOI: 10.1186/1752-153X-6-35.

Callies, O. (2011). FUENTE DE FÁRMACOS EN EL SIGLO XXI. *Ciencia Amazónica (Iquitos)*, 1(2), pp. 149-153. DOI: 10.22386/ca.v1i2.18.

Cañigueral, S. (2002). La Fitoterapia: ¿una terapéutica para el tercer milenio? *Revista de Fitoterapia* 2, pp. 101–121. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/228863288_La_Fitoterapia_una_terapeutica_para_el_tercer_milenio [Consultado el 10/05/2020].

Cañigueral, S., Dellacassa, E., y Bandoni, A. L. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta farmacéutica bonaerense*, 22 (3), pp. 265-279. Disponible en http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf [Consultado el 15/05/2020].

Castro, N. P. P., y Verbel, J. T. O. (2011). Química verde: un nuevo reto. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 21(2), 169-182. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/911/91123440009.pdf> [Consultado el 15/08/2020].

Centro Campillo, (2017). *Rosal silvestre (Rosa canina)*. Disponible en <https://centrocampillo.wordpress.com/2017/08/17/rosal-silvestre-rosa-canina/> [Consultado el 10/09/20].

Cervantes-Valencia, M.E. (2016). Evaluación etnofarmacológica de la curcumina (Curcuma longa) en ovinos estabulados infectados con *Eimeria* spp. Tesis doctoral. *Universidad Nacional Autónoma de México* 124. Disponible en <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/65157/2016%20-%20MAR%C3%8DA%20EUGENIA%20CERVANTES%20VALENCIA-ilovepdf-compressed-split-merge.pdf?sequence=3&isAllowed=y> [Consultado el 29/08/2020].

Chartier, C., y Paraud, C. (2012). Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*, 103 (1), pp. 84-92. DOI:10.1016/j.smallrumres.2011.10.022.

Chrubasik, C., Roufogalis, B. D., Müller-Ladner, U., y Chrupasik, S. (2008). A systematic review on the Rosa canina effect and efficacy profiles. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(6), pp. 725-733. DOI:10.1002/ptr.2400.

CIMA-Vet Medicamentos Veterinarios (2020). Etiqueta - prospecto: Deccox 60 mg/g premezcla medicamentosa para ovino y bovino. *AEMPS - Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social.* Disponible en https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/p/1956+ESP/P_1956+ESP.pdf [Consultado el 10/08/2020].

Ecoagricultor (2016). Ecoagricultor. Caléndula, propiedades medicinales y usos en remedios caseros. Disponible en <https://www.ecoagricultor.com/plantas-medicinales-cultivo-y-usos-de-la-calendula/>. [Consultado el 3/09/2020].

Efstratiou, E., Hussain, A. I., Nigam, P. S., Moore, J. E., Ayub, M. A., y Rao, J. R. (2012). Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 18(3), pp. 173-176. DOI: 10.1016/j.ctcp.2012.02.003.

Equipo Tikal (2010). *Plantas medicinales*. Tikal ediciones, Madrid, pp. 4-288.

Escribano, C. S. (2019). *Evaluación inmunológica de ovinos resistentes y susceptibles a la infestación por el nemátodo *Haemonchus contortus**. Tesis doctoral. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Disponible en

[https://www.researchgate.net/publication/332974430 Evaluacion inmunologica de ovinos resistentes y susceptibles a la infestacion por el nematodo Haemonchus contortus](https://www.researchgate.net/publication/332974430_Evaluacion_inmunologica_de_ovinos_resistentes_y_susceptibles_a_la_infestacion_por_el_nematodo_Haemonchus_contortus)
[Consultado el 20/08/2020].

Ferrer, L. M., García de Jalón, J. A., y de las Heras, M. (2007). *Atlas de patología ovina* (No. V603 FERA). Editorial Servet, Zaragoza, pp. 91-96.

Fiel, C., Steffan, P., y Ferreyra, D. (2011). Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: técnicas de diagnóstico e interpretación de resultados. *Primera Edición - Tandil: Abad Benjamín*, Buenos Aires, pp. 16 - 28. ISBN: ISBN 978-987-33-1502-2. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Cesar_Fiel/publication/272825749 Diagnostico de las parasitosis mas frecuentes de los rumiantes tecnicas de diagnostico e interpretacion de resultados/links/54f071a20cf25f74d726bf37/Diagnostico-de-las-parasitosis-mas-frecuentes-de-los-rumiantes-tecnicas-de-diagnostico-e-interpretacion-de-resultados.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Cesar_Fiel/publication/272825749_Diagnostico_de_las_parasitosis_mas_frecuentes_de_los_rumiantes_tecnicas_de_diagnostico_e_interpretacion_de_resultados/links/54f071a20cf25f74d726bf37/Diagnostico-de-las-parasitosis-mas-frecuentes-de-los-rumiantes-tecnicas-de-diagnostico-e-interpretacion-de-resultados.pdf) [Consultado el 18/08/2020].

Figueroa-Castillo, J. A., Jasso-Villazul, C., Liébano-Hernández, E., Martínez-Labat, P., Rodríguez-Vivas, R. I., y Zárate-Ramos, J. J. (2015). Examen coproparasitoscópico. *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. DF, México: AMPAVE-CONASA*. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/279530633_Figueroa-Castillo_JA_Jasso-Villazul_C_Liebano-Hernandez_E_Martinez-Labat_P_Rodriguez-Vivas_RI_Zarate-Ramos_JJ_2015_Capitulo_3_Examen_coproparasitoscopico_En_Tecnicas_para_el_diagnostico_de_parasitos_c [Consultado el 16/08/2020].

García de Jalón, J. A. (2000). Diarreas en corderos y cabritos. *Sociedad Española de Ovinotecnia y caprinotecnia (SEOC). PR PEQUEÑOS RUMIANTES, 1(1)*, pp. 8-14. Disponible en <https://seoc.eu/wp-content/uploads/2016/06/pRv1n1sep00.pdf#page=5> [Consultado el 15/07/2020].

García Romero, C. (2008). Fitoterapia en ganadería ecológica/orgánica. Flora medicinal de España y Panamá. *Editorial Agrícola Española SA*, Madrid, pp. 12-23. Disponible en https://www.mida.gob.pa/upload/documentos/librosdigitales/Rural/Fitoterapia_en_Ganaderia_Ecolologica_Organica/fitoterapia_en_ganaderia_ecologica_organica.pdf [Consultado el 5/09/2020].

Giannenas, I., Bonos, E., Christaki, E., y Florou-Paneri, P. (2013). Essential oils and their applications in animal nutrition. *Med. Aromat. Plants*, 2(6), pp. 1-12. DOI: 10.4172/2167-0412.1000140.

González, J.M., Ferrer, L. M., Gil, J. A., Uriarte, J., Figueras, L., García, L., Lacasta, D. y Barrón, L. (2002). Efecto del empleo de diclazuril sobre la excreción de ooquistes de coccidios y los índices productivos de corderos tipo ternasco II. Cebo de los corderos. *Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. XXVII Jornadas Científicas de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)*, pp. 636 - 642. Disponible en <https://seoc.eu/wp-content/plugins/download-attachments/includes/download.php?id=418> [Consultado el 3/09/2020].

Hensel, W. (2008). *Plantas medicinales. Nueva generación de guías de campo*. Ediciones Omega, Barcelona, pp. 33-187.

Hur, S. N., Molan, A. L., y Cha, J. O. (2005). Effects of feeding condensed tannin-containing plants on natural coccidian infection in goats. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 18(9), pp. 1262-1266. DOI: [10.5713/ajas.2005.1262](https://doi.org/10.5713/ajas.2005.1262).

Hussain, K., Iqbal, Z., Zahid Abbas, R., Kasib Khan, M., y Kashif Saleemi, M. (2017). Immunomodulatory activity of *Glycyrrhiza glabra* extract against mixed *Eimeria* infection in chickens. *International Journal of Agriculture & Biology*, 19(4), pp. 928-932. DOI: 10.17957/IJAB/15.0397.

Jenkins, M. C., Parker, C., O'Brien, C., Persyn, J., Barlow, D., Miska, K., y Fetterer, R. (2013). Protecting chickens against coccidiosis in floor pens by administering *Eimeria* oocysts using gel beads or spray vaccination. *Avian diseases*, 57(3), pp. 622-626. DOI: 10.1637/10516-022213-Reg.1.

Mattos Gesteira, E., Santos Bobillo, M., Alonso Beato, M., Ladero Álvarez, M., y Ladero Santos, I. (2008). Plantas medicinales españolas: Familia «Rosaceae». *Studia Botanica*, (27), pp. 9–142. Disponible en <https://revistas.usal.es/index.php/0211-9714/article/download/7338/7865> [Consultado el 23/07/2020].

Matos Guedes, L. (2015). *Estudio biopatológico y respuesta inmune en la coccidiosis caprina por "eimeria ninakohlyakimovae": implicaciones en el control de la enfermedad*. Tesis doctoral. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Disponible en <https://accedacris.ulpgc.es/handle/10553/24374> [Consultado el 24/08/2020].

Monteagudo, L., Del Cacho, E., Gallego, M., Pagès, M., y Sánchez, C. (2007). Efecto del coccidiostático decoquinato en la reorganización de cromosomas meióticos de *Eimeria tenella*. *Panea B. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA). XXXVIII jornadas de estudio. XII jornadas sobre Producción Animal. Zaragoza: Información Técnica Económica Agraria (ITEA)*, pp. 441-443. Disponible en http://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/2007/comunicaciones/2007_Gen_25.pdf [Consultado el 20/07/2020].

Preethi, K. C., y Kuttan, R. (2009a). Wound healing activity of flower extract of *Calendula officinalis*. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 20(1), pp. 73-80. DOI: 10.1515/JBCPP.2009.20.1.73.

Preethi, K. C., Kuttan, G., y Kuttan, R. (2009b). Anti-inflammatory activity of flower extract of *Calendula officinalis* Linn. and its possible mechanism of action. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47, pp. 113–120. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19374166/> [Consultado el 10/08/2020].

Puche Cañas, E. y de Dios Luna, J. (2006). Reacciones adversas a medicamentos: una revisión actualizada del problema en España. *Revista clínica española*, 206(7), pp. 336-339. DOI: 10.1157/13090482.

Reglamento (CE) nº 889/2008 de la Comisión, del 5 de septiembre de 2008, *por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control*.

Reina, D., Alcaide, M., Bravo, D., Blanco, J. y Hábela, M.Á. (2011). La coccidiosis en ganado ovino. Sus posibilidades de control. *Ganadería*, (76), pp. 48-52. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/303381680_La_coccidiosis_en_ganado_ovino_Sus_posibilidades_de_control [Consultado el 11/07/2020].

Rojo-Vázquez, F. A., Martínez-Valladares, M., Valcárcel, F. y Meana, A. (2011). Patología digestiva de los corderos: coccidiosis y criptosporidiosis. *Tierras de Castilla y León: Ganadería*, (184), pp. 18-22. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/283491868_PATOLOGIA_DIGESTIVA_DE_LOS_CORDEROS_COCCIDIOSIS_Y_CRIPTOSPORIDIOSIS [Consultado el 2/03/2020].

Rossanigo, C. (2007). Coccidiosis y Criptosporidiosis. *Enfermedades parasitarias de los bovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*, pp. 231-236. Disponible en <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-protozoarios.pdf> [Consultado el 25/03/2020].

Sánchez Acedo, C., Lopez-Ángulo, A.R., del Cacho Malo, E. y Quílez Cinca, J. (2013). La coccidiosis en el ganado ovino. *Albéitar: publicación veterinaria independiente*, (168), pp. 16-18. Disponible en <http://albeitar.portalveterinaria.com> [Consultado el 2/03/2020].

Saratsis, A., Joachim, A., Alexandros, S., y Sotiraki, S. (2011). Lamb coccidiosis dynamics in different dairy production systems. *Veterinary Parasitology*, 181(2-4), pp. 131-138. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.04.027.

Sayago, D., Ríos, L., Rondon, Z., García, F., Colmenares, O., Machado, I., y Muñoz, G. (2004). Uso de controles profilácticos y terapéuticos de coccidiosis en corderos tropicales. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 45(1), pp. 45-54. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/261698612_Uso_de_controles_profilacticos_y_terapeuticos_de_coccidiosis_en_corderos_tropicales_Use_of_Preventive_and_Therapeutic_Coccidiosis_Controls_in_Tropical_Lambs [Consultado el 24/07/2020].

Serrano Aguilera, F. J. (2010). *Manual práctico de parasitología veterinaria*. Universidad de Extremadura, Servicio de Publicaciones, pp. 47-54. Disponible en https://mascvuex.unex.es/ebooks/sites/mascvuex.unex.es.mascvuex.ebooks/files/files/file/Parasitologia_9788477239109.pdf [Consultado el 22/07/2020].

Siedentopp, U. (2008). El regaliz, una planta medicinal eficaz para la tos y las afecciones de estómago. *Revista Internacional de Acupuntura*, 2(4), pp. 249-252. DOI: 10.1016/s1887-8369(08)75618-7.

Taylor, M. A., y Bartram, D. J. (2012). The history of decoquinate in the control of coccidial infections in ruminants. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35(5), pp. 417-427. DOI: 10.1111/j.1365-2885.2012.01421.x.

Taylor, M. A., Marshall, R. N., Marshall, J. A., Catchpole, J., y Bartram, D. (2011). Dose-response effects of diclazuril against pathogenic species of ovine coccidia and the development of protective immunity. *Veterinary parasitology*, 178(1-2), pp. 48-57. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.12.024.

Tirado, P. A., Díaz, M. D., de Haro, M. N., y Gómez, B. F. (2001). Ingreso hospitalario atribuible a efectos adversos medicamentosos. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 36(6), pp. 340-344. DOI: 10.1016/s0211-139x(01)74753-1.

Ullah, M. I., Akhtar, M., Awais, M. M., Anwar, M. I., y Khaliq, K. (2018). Evaluation of immunostimulatory and immunotherapeutic effects of tropical mushroom (*Lentinus edodes*) against eimeriasis in chicken. *Tropical animal health and production*, 50(1), pp. 97-104. DOI: [10.1615/intjmedmushrooms.v17.i3.100](https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v17.i3.100).

Villalba, J.J., Miller, J., Ungar, E. D., Landau, S.Y. y Glendinning, J. (2014). Ruminant self-medication against gastrointestinal nematodes: evidence, mechanism and origins. *Parasite*, pp. 21-31. DOI: [10.1051/parasite/2014032](https://doi.org/10.1051/parasite/2014032).

Valliammai, S., Deepak Ashwin, M. y Sivachandran, B. (2020). Evaluation of pharmacognostical, phytochemical and antimicrobial properties of *Clerodendrum heterophyllum* (Poir.) R.br. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.07.635>.