

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DE LA INFECCIÓN POR HUEVOS DE *Taenia pisiformis* EN EL
CONEJO DOMÉSTICO (*Oryctolagus cuniculus*) A NIVEL CONDUCTUAL,
HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO.

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

MIGUEL ANGEL BETANCOURT ALONSO

TUTOR: Fernando Iván Flores Pérez

COMITÉ TUTORAL: Agustín Orihuela Trujillo
Mario Pérez Martínez



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi esposa Otty, quien es la inspiración para seguir adelante día con día; por su constante apoyo en los objetivos que me he propuesto hasta el momento y por su amor y comprensión que me brinda en cada momento de mi vida.

A mi Padre por sus consejos, su compañía y su tiempo durante la realización de este trabajo. A mi madre por sus innumerables muestras de ánimo durante estos 2 años; finalmente a los dos les doy las gracias por apoyarme en todo momento y decisión que he tomado hasta este día de mi vida. A mi hermano, por su compañía en los viajes a Cuernavaca.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Iván Flores Pérez, por guiarme adecuadamente en este proyecto.

Al Dr. Mario Pérez Martínez por sus constantes palabras de ánimo y sus consejos desde hace ya algunos años, los cuales han sido pieza fundamental en mi desarrollo académico.

Al Dr. Agustín Orihuela Trujillo, por sus comentarios y sugerencias que enriquecieron este trabajo.

A la Maestra en Ciencias Liliana Aguilar, a los Ingenieros en Producción Animal José Antonio Fitz y Alberto Torres por su valiosa ayuda en la realización de este proyecto.

Al M.V.Z. Samuel Said Serrano Gómez por su motivación para la finalización de este trabajo y su compañía en la senda del rock duro, especialmente en el 2006.

También se agradece al proyecto CONACyT 53078 de apoyo complementario a la investigación científica para investigadores en proceso de consolidación y al proyecto PROMEP /103.5/04/2862 para la realización de este trabajo.

A las autoridades del Centro Antirrábico de la Delegación de tláhuac por las facilidades otorgadas en el muestreo en perros.

Contenido

I.	Resumen	
II.	Abstract	
III.	Introducción.....	1
IV.	Hipótesis	10
V.	Objetivo general.....	11
VI.	Objetivos específicos.....	12
VII.	Material y métodos.....	13
	A) Animales.....	13
	B) Grupos de animales.....	13
	C) Obtención del céstodo adulto de <i>Taenia pisiformis</i>	14
	D) Inspección de intestinos.....	15
	E) Obtención de huevos de <i>T. pisiformis</i>	16
	F) Cuantificación de huevos de <i>T. pisiformis</i>	16
	G) Confirmación del género y especie de <i>T. pisiformis</i>	16
	H) Infección por vía oral con huevos de <i>T. pisiformis</i>	17
	I) Estudio conductual.....	17
	J) Valoración de la Receptividad de las conejas infectadas y sin infectar hacia el macho.....	19
	K) Evaluación de jerarquía.....	19
	L) Obtención de muestras sanguíneas.....	20
	M) Pesos.....	21
	N)Sacrificio.....	21
	O) Necropsias.....	21
	P) Análisis estadístico	22
VIII.	Resultados.....	23

IX. Discusión.....	34
X. Referencias.....	44

Lista de cuadros

Cuadro 1. Resumen de las conductas individuales evaluadas en conejos infectados con *T. pisiformis*.

Cuadro 2. Número de desplazamientos de 20 conejas 48 hrs. antes de la infección con huevos de *T. pisiformis*.

Cuadro 3. Número e Índice de desplazamientos entre conejas del grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis*.

Cuadro 4. Número de montas realizadas a conejas del grupo testigo y conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*

Cuadro 5. Valores hematológicos obtenidos de grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis* a los 0, 7, 14 y 25 días post infección

Cuadro 6. Valores del perfil hepático obtenidos de grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis* a los días 0, 7, 14 y 25 post infección.

Cuadro 7. Hallazgos en conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* a los 25 días post infección.

Lista de Figuras

Figura 1. Coneja infectada con huevos de *T. pisiformis* marcada de color negro sobre el dorso.

Figura 2. Jaulas observadas con la cámara 1

Figura 3. Jaulas observadas con la cámara 2

Figura 4. Conducta individual en conejas del grupo testigo y conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*.

Figura 5. Modificaciones en el tiempo de permanencia en el bebedero a los 25 días post infección.

Figura 6. Modificaciones en la conducta de echarse a los 25 días post infección.

Figura 7. Modificaciones en la conducta de acicalamiento a los 25 días post infección.

Figura 8. Modificaciones en el tiempo de permanencia en el comedero a los 25 días post infección.

Figura 9. Registro de pesos de conejas sin infectar e infectadas con huevos de *T. pisiformis*.

Figura 10. Lesiones hepáticas provocadas por las oncósferas de *T. pisiformis*

Figura 11. Presencia de un metacéstodo en estado vesicular sobre el mesenterio.

I. RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de valorar si una infección con 3,000 huevos de *Taenia pisiformis* en conejas domésticas adultas a los 25 días post infección induce cambios en el comportamiento individual y social, así como alteraciones en el hemograma, perfil hepático y ganancia de peso. Se realizaron grabaciones a partir del día 2 post infección de 19:00 a 21:00 hrs. con el fin de registrar la conducta individual. Se llevó a cabo una prueba de competencia por el alimento entre los 2 grupos posteriormente a un ayuno de 5 hrs. para determinar el índice de desplazamiento. Muestras de sangre fueron tomadas a los días 0, 7, 14 y 25 post infección para efectuar un hemograma y una prueba de función hepática. Las conejas fueron pesadas durante todo el experimento para detectar posibles diferencias en el peso. Se observó que en el caso de la conducta individual las conejas infectadas dedican mayor tiempo en permanecer echadas ($P < 0.001$), menor tiempo en acicalarse ($P < 0.05$), y en permanecer en el bebedero ($P < 0.01$). En el tiempo de permanencia en el comedero y en la medición de las jerarquías no existieron diferencias significativas. En los resultados obtenidos en el hemograma se observaron cambios en los leucocitos al día 25 post infección, siendo mayor en este día ($P < 0.05$), los heterófilos al día 7 presentan su mayor incremento y al día 25 post infección estos disminuyen ($P < 0.05$), los linfocitos al día 25 post infección se presentan en mayor número ($P < 0.05$) y los basófilos al día 14 y 25 post infección es donde se encuentran más incrementados ($P < 0.05$), en el caso de los valores obtenidos en los monocitos y eosinófilos no existieron diferencias estadísticas. En los resultados del perfil hepático se observaron cambios en analitos como Bilirrubinas totales, conjugada y no conjugada presentando su máximo aumento a los 25 días post infección ($P < 0.05$), y la Fosfatasa Alcalina aumenta al día 7 post infección ($P < 0.05$), por último en el caso de la ganancia de peso no existieron diferencias significativas. En una infección con huevos de *T. pisiformis* en conejas, el comportamiento del animal enfermo empieza a manifestarse a los 6 días post infección, este efecto es atribuido a citocinas pro inflamatorias como IL-6, Factor de Necrosis Tumoral e IL-8 que son sintetizadas por linfocitos, los cuales tuvieron su incremento máximo al día 25 post infección. Los valores aumentados en bilirrubinas y fosfatasa alcalina son un marco de referencia para orientar un posible diagnóstico.

Palabras clave: *Taenia pisiformis*, conducta individual, hemograma y perfil hepático.

II. Abstract

Twenty adult female New Zealand rabbits were allocated to two balanced groups according to body weight, to determine whether changes in the behavior, hematological and hepatic parameters can be induced in rabbits after a *Taenia pisiformis* infection. Each treated animal was orally infected with 3,000 eggs of *T. pisiformis*, while the control group only received saline solution. Behavioral activity was recorded daily from 19:00 to 21:00 h starting two days post infection. Food competition tests were conducted between .In addition, blood samples were collected at 0, 7, 14 and 25 days post infection, for hematological and hepatic function determinations. All animals were euthanized at 25 day post infection after last sampling. A Proportion test was used to compare individual behaviours between groups while a sign test was used for dominance-subordinance analysis. Hematological and hepatic parameters were compared using a "t" test. Treated animals spent more ($P<0.01$) time lying down (87 vs. 17%) and less ($P<0.05$) time grooming (43 vs. 57%) and drinking (26vs. 74%) than controls. These differences were noticeable six day post infection and remained until the end of the experiment. No changes ($P>0.05$) were observed in the time spent eating and in the dominance-subordinance relation between pairs. Leucocytes, heterófilos and lymphocytes concentrations were large ($P<0.05$) in treated than control rabbits. Furthermore, infected animals had larger concentrations of phosphatase alkaline at 7 day post infection than non infected rabbits. Necropsy findings corroborate hepatic lesions and presence of the parasite in all infected animals. It was concluded that an infection of *T. pisiformis* induced changes in behavioral patterns, hematological and hepatic parameters. This behavioral changes may contribute in the early diagnosis of the disease.

Keywords: *Taenia pisiformis*, behavior of sick animals, parasite infection, rabbits, hepatic function

III. INTRODUCCIÓN

Los seres vivos, desde hace millones de años compiten por conseguir alimento y espacio para habitar. Lo cual, evolutivamente ha originado a los parásitos, que son organismos que infectan a otros seres vivos denominados huéspedes u hospederos, con la finalidad de obtener alimento y protección (Soulsby, 1987).

Los animales domésticos pueden ser huéspedes de una o varias especies de parásitos que están constituidos por una sola célula, (protozoarios), hasta organismos constituidos por varias células que presentan una organización anatómica y funcional compleja, que se conocen como metazoarios (Cordero, 1999). Al poder tener una gran variedad de huéspedes las parasitosis son capaces de incrementar su frecuencia y prevalencia fácilmente, por lo que constituyen un problema de salud tanto animal como humano, además de disminuir el potencial productivo de los animales infectados, lo que se traduce en pérdidas económicas e inversión en tratamientos (Euzeby, 2000).

El conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*), es una especie productiva que presenta diversas ventajas, entre las que destacan su elevado índice de prolificidad, no compite con el humano por los alimentos y que se puede obtener carne de un valor nutricional superior al de otras especies (Mcnitt, 2000). Además, el conejo se emplea como animal, de compañía y experimentación (Fox, 1984; Harkness, 1995)

Taenia pisiformis (*T. pisiformis*) es un céstodo que presenta características morfológicas distintivas en el escólex que es de forma piriforme y globular de 1.3 mm, posee un rostelo formado por 2 coronas de 34 a 48 ganchos de diferentes tamaños, los largos miden 0.225 mm y los pequeños de 0.132 a 0.117 mm, así como la posición del poro genital y la forma de los proglótidos (Dunn, 1983).

T. pisiformis que infecta al conejo doméstico y a las liebres silvestres (Quiroz, 1999), su ciclo de vida necesita de huéspedes definitivos como son el perro (*Canis familiaris*) o zorro (*Vulpes sp*), que desarrollan al céstodo adulto o gusano aplanado, este céstodo es capaz de producir en cada proglótido grávido de cientos a miles de huevos, (Dunn,1983), semiesféricos, de color ámbar y que miden de 30 a 40 μm de diámetro y poseen varias envolturas que le permiten al embrión sobrevivir en el medio ambiente (Quiroz, 1999). El céstodo adulto se encuentra localizado en el intestino delgado del huésped definitivo el cual es eliminado con las heces, contaminando el ambiente (Soulsby, 1987).

Cuando la liebre o el conejo consumen dichos huevos y estos eclosionan, migran a distintos tejidos como es el hígado, mesenterio y cavidad peritoneal (Flatt y Moses, 1975; Quiroz, 1999; Percy, 2001); en estos dos últimos sitios anatómicos es donde se desarrolla la fase de metacéstodo, la cual presenta estructuras tales como un escólex invaginado y un saco materno que lo envuelve presentando una apariencia que semeja a una vesícula (Cordero, 1999).

El ciclo se completa cuando los carnívoros se alimentan de los metacéstodos de *T. pisiformis* contenidos en la cavidad peritoneal (Flatt y Moses, 1975; Quiroz, 1999; Percy 2001).

En la infección con huevos de *T. pisiformis* se ha observado que existen lesiones a nivel hepático desde el día 2 pos infección y que la fase de metacéstodo se desarrolla de 15 a 30 días post infección (Flatt y Moses, 1975)

Por las características de su ciclo biológico, tanto la *T. pisiformis* como la *Taenia crassiceps* (*T. crassiceps*) se han empleado como modelo de estudio de la teniosis cisticercosis por *Taenia solium* (*T. solium*), por lo que son de gran utilidad en la investigación biomédica (Craig, 1988; Terrazas, 2005; Jiménez y col., 2006).

Los animales domésticos y otras especies como el ser humano, al ser infectados por diversos agentes patógenos incluidos los parásitos, despliegan una serie de respuestas tales como la inmunológica, la fisiológica, la metabólica y la conductual, mejor conocidas como reacciones de fase aguda de una enfermedad. (Larson y Duna, 2001; Konsman, 2002; Dantzer, 2004)

En términos generales los síntomas típicos asociados a un proceso de enfermedad en animales domésticos son depresión, pérdida de interés en explorar su entorno, disminución en el consumo de alimento o selección en la inclusión de los nutrientes y reducción en el consumo de agua, este tipo de

cambios conductuales, reciben el nombre del comportamiento del animal enfermo (Hart, 1988).

En 1988 se propuso que patrones de comportamiento asociados a enfermedad, corresponden a una respuesta estratégica para combatir la infección por parte del huésped; esto podría tener ciertos efectos motivacionales, por ejemplo, en alguna situación de peligro donde el individuo debe estar atento a todo lo que ocurre a su alrededor, para poder presentar un comportamiento defensivo o de huida que la permita sobrevivir, de no ser así el animal estaría condenado a perder la vida por algún depredador, lo cual seguramente pondría en peligro no solo al individuo sino a la especie en su conjunto (Hart 1998).

La primera evidencia de que los cambios conductuales que presenta un animal enfermo conforman un estado motivacional, en lugar de una debilidad física fue aportada por Miller (1964), cuando observó que las ratas tratadas con una endotoxina suspendían la acción de presionar una barra para obtener agua, y que cuando se les auxiliaba presionando la barra por ellas el consumo disminuía.

Se observó que este efecto no fue específico hacía la motivación de beber agua, sino que la administración de la endotoxina también redujo la cantidad de alimento ingerido e incluso redujo la respuesta de las ratas entrenadas a presionar una barra a cambio de una recompensa (Aubert y col., 1997).

Se ha descrito en ratas, que como parte del comportamiento del animal enfermo, provocado de manera experimental, la conducta sexual se afecta al existir una disminución de la lordosis en las hembras y en la receptividad sexual (Yirmiya y col., 1994)

Con el uso de un modelo murino, se ha documentado que las hembras prefieren aparearse con los machos que no han sido inyectados con el LPS (lipopolisacaridos), -componente estructural de la pared bacteriana-, como un probable mecanismo de protección para evitar ser infectados por un macho portador de un agente bacteriano (Dantzer, 2004), es necesario mencionar, que si un agente patógeno afecta la capacidad reproductiva de su huésped esto se traduce en pérdidas económicas para la producción pecuaria.

El comportamiento en algunas especies como los herbívoros, es un factor limitante de la infección por parásitos, ya que estos consumen forrajes con efecto antiparasitario (Hutchings y col., 2003) o evitan pastorear en las praderas contaminadas con heces (Suárez y Orihuela 2002).

Para el conejo sano diversos estudios se han llevado a cabo con el objetivo de estudiar la conducta materna que este exhibe, como ejemplo se tiene la relación que se ha establecido entre los niveles de estradiol y progesterona que son responsables de estimular la conducta de escarbar en las hembras con la finalidad de construir un nido para los futuros productos (González-Mariscal 2005, 2007). Por otro lado también se han llevado a cabo estudios en el conejo chinchilla en el cual se observa que en condiciones de campo los conejos más

activos presentan ciclos respiratorios más largos en relación a aquellos conejos cuyos niveles de actividad son menores (Pavlova, 2007) y en términos generales se ha documentado que el conejo presenta conductas individuales tales como acicalarse, comer, y beber agua, así también de manera colectiva se sabe que el conejo es un animal territorial (Torres, 1987).

Con respecto a la conducta sexual del macho de la raza Nueva Zelanda se ha referido que el tiempo mínimo de eyaculación existente entre una monta y otra va de 0.17 minutos a 5.33 minutos esto en condiciones de producción (Fuentes, 2004).

Para el caso del estudio del comportamiento del animal enfermo en conejos no se ha generado literatura al respecto. Sin embargo para estudiar la conducta animal se han empleado estrategias tales como muestreos focales y de barrido, entre otras (Galindo y Orihuela, 2004).

Con respecto a las modificaciones conductuales, que específicamente puede inducir una infección con cestodos se sabe que los ratones infectados con metacéstodos de *Taenia crassiceps* (*T. crassiceps*) presentan alteraciones en la conducta sexual del macho que implican incluso trastornos en la eyaculación, posteriormente estos animales sufren un proceso de feminización (Larralde, 1995). Asimismo se ha observado que los ratones machos infectados que pertenecen a la cepa BALB/C, con mayor frecuencia adoptan una conducta de subordinación con respecto a los animales no infectados, aunado a esto

presentan modificaciones en su comportamiento territorial y agresividad (Morales, 1996).

Otro aspecto de interés es que los cambios conductuales tienen su base biológica en mediadores químicos secretados por el sistema inmunológico y el sistema endócrino (Quan, 1999; O'connor, 2003) este hecho, permite plantear que al observar el comportamiento del animal enfermo en un conejo infectado con *T.pisiformis*, se estudien paralelamente los cambios a nivel hematológico y hepático.

En este contexto, los cambios que el sistema inmunológico experimenta a causa de una infección parasitaria, pueden ser valorados a nivel sanguíneo con el empleo de herramientas diagnósticas como la biometría hemática, que permite evidenciar el aumento o disminución en las células blancas y rojas circulantes (Helmunt, 1998).

El ensayo de biometría hemática sirve para valorar el estado general de salud de diversas especies domésticas, además de ser un método relativamente accesible incluso en los casos de animales que se encuentran en producción (Helmunt, 1998; Loeb, 1999)

En ciertas infecciones experimentales en el ratón y el conejo, llevadas a cabo con parásitos como *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* y *Ascaris suum*, los leucocitos, eosinófilos y neutrófilos pueden tener alteraciones y se destaca que existe un incremento principalmente en los eosinófilos (Sugane y Oshima, 1980

y Lukes, 1985). Sin embargo, esta última condición no es una generalidad en todas las parasitosis (Schulte, 2002).

En el caso del hígado que es infectado por las oncósferas eclosionadas de los huevos de *T.pisiformis*, se han observado lesiones hepáticas consistentes en granulomas que poseen necrosis de hepatocitos, migración de heterófilos, linfocitos y macrófagos; y en algunas ocasiones se encuentran restos del parásito (Flatt y Campbell, 1974). En este sentido, las pruebas de función hepática que dan información relativa a la fisiología de este órgano, mediante la medición de enzimas son un instrumento de utilidad para evidenciar las posibles alteraciones (Helmunt, 1998).

Es importante añadir que, en otras cestodiasis como la *T. solium* que afecta tanto al cerdo como al humano, la reacción inflamatoria existente a nivel hepático y en otros sitios como músculo y cerebro ha sido ya descrita y que los linfocitos desempeñan un papel relevante en la destrucción del parásito (Aluja y Vargas, 1998). Recientemente se han caracterizado las subpoblaciones de linfocitos CD4 y CD8 presentes en la reacción inflamatoria en músculo a causa de la infección con el metacestodo de *T. solium* en cerdos (Pérez y col., 2003). Tomando en cuenta lo ya expuesto en esta introducción se plantea generar información de las posibles conductas que a nivel individual y social puedan ser afectadas por una infección con huevos de *T. pisiformis*, así como evidenciar las posibles alteraciones a nivel hematológico y hepático que una infección de esta naturaleza sea capaz de provocar.

IV. HIPÓTESIS

La infección con huevos de *Taenia pisiformis* es capaz de inducir cambios en la conducta individual y social de conejas domésticas; así como alteraciones hematológicas y en la función hepática.

La infección con huevos de *Taenia pisiformis* es capaz de inducir cambios en la ganancia de peso de conejas domésticas.

V. OBJETIVO GENERAL

Evidenciar los posibles cambios conductuales en el conejo como consecuencia de la infección con huevos de *T. pisiformis*, así como sus efectos a nivel hematológico, en el funcionamiento hepático y en la ganancia de peso.

VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Valorar los cambios en la parámetros conductuales individuales y sociales en conejas adultas en el transcurso de la infección experimental por huevos de *T. pisiformis*.
2. Identificar posibles cambios hematológicos mediante el empleo de la biometría hemática en conejas adultas infectadas experimentalmente con huevos de *T. pisiformis*.
3. Evaluar el funcionamiento hepático mediante la determinación de la química sanguínea de conejas durante la infección por huevos de *T. pisiformis*.
4. Valorar los cambios en la ganancia de peso de conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*.

VII. MATERIAL Y METODOS

A) Animales

Se utilizaron 20 conejas adultas de la raza Nueva Zelanda blancas, los animales contaban con un peso promedio \pm EE de $2.67 \pm .09$ Kg., al inicio, las cuales fueron mantenidas en condiciones convencionales de producción y eran provenientes del Instituto Nacional de Salud Pública Cuernavaca Morelos, clínicamente sanas y sin historia clínica de infección por parásitos.

Las conejas fueron alimentadas con un concentrado¹ que contenía 16% de proteína cruda; el concentrado se administró a libre demanda excepto en la realización de las pruebas de jerarquía, en el caso del agua se administró *ad libitum* en todo momento.

Con la finalidad de poder reducir agresiones entre las conejas, previo a la infección se mantuvieron en pares por un periodo de 10 días.

B) Grupos de animales

Para realizar esta fase se dividieron de manera aleatoria las conejas en 2 grupos que estuvieron constituidos de la manera siguiente:

El grupo 1: estuvo conformado por 10 conejas, a las que se les inoculó 3,000 huevos de *T. pisiformis*, este fue el grupo de conejas infectadas

El grupo 2 se conformó por 10 conejas sin infectar que sirvieron como testigo.

¹ Purina

El peso y el estado general de salud de los animales se determinaron durante todo el experimento mediante la exploración clínica como es el exámen físico. Los animales se mantuvieron en jaulas con una dimensión de 60 x 40 x 90 cm. y una distribución tipo Flat-Deck por parejas es decir una sin infectar y una infectada.

Al ser alojadas en pares se identificó a la coneja infectada con un marcador de color negro sobre el dorso para de esta manera distinguir entre los 2 tratamientos (Figura 1).

Figura 1. Coneja infectada con huevos de *T. pisiformis* marcada de color negro sobre el dorso.



C) Obtención del céstodo adulto de *Taenia pisiformis*

Con la finalidad de obtener el céstodo adulto se extrajeron los intestinos de 126 perros adultos, de los cuales 62 fueron machos y 64 hembras. Los perros fueron sacrificados en el centro antirrábico de la delegación de Tláhuac, D.F.

Una vez obtenidos los intestinos se aplicó una ligadura en el extremo craneal y caudal de cada uno de ellos y se identificaron con una etiqueta en la que se anotó el sexo y el número correspondiente, por último cada intestino se

almacenó de manera individual en una bolsa de plástico, este material biológico permaneció a 4°C.

D) Inspección de intestinos

La inspección de intestinos se llevó a cabo en la sala de necropsias de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, cada intestino fue inspeccionado por 3 operarios distintos practicando para ello previamente un corte longitudinal que permite una inspección adecuada de los parásitos existentes en el lumen intestinal.

Utilizando las características morfológicas como son la apariencia macroscópica de los proglótidos, la posición del poro genital y el escólex se separaron los parásitos que coinciden con las características referidas para *T. pisiformis* en un recipiente que contenía solución salina fisiológica posteriormente, se llevó a cabo una nueva revisión y confirmación de la identidad del céstodo.

Los céstodos adultos que morfológicamente presentan las características de *T. pisiformis* fueron lavados con solución salina fisiológica y 10% de penicilina-estreptomicina .

E) Obtención de huevos de *T. pisiformis*

A partir de los céstodos adultos se obtuvieron los proglótidos grávidos maduros esto con el empleo de un microscopio óptico, los proglótidos se maceraron con

la ayuda de un mortero y los segmentos mas pequeños se seccionaron con un bisturí.

La solución resultante fue separada cuidadosamente con micropipetas de diversos volúmenes y depositada en micro tubos (Flores y col., 2003).

Los huevos se almacenaron en solución salina fisiológica con antibiótico al 10% (penicilina- estreptomycin) y a 4° C.

F) Cuantificación de huevos de *T. pisiformis*

Esta cuantificación consistió en tomar 10µl de la suspensión de huevos, y 90µl de solución salina fisiológica (SSF), se depositó este volumen en una cámara de Neubauer, contando los huevos que se encontraron en el cuadrante central y a continuación el valor obtenido se multiplicó por el factor de dilución correspondiente (1 en 10) (Flores y col., 2003).

G) Confirmación del género y especie de *T. pisiformis*

Para confirmar que los huevos obtenidos correspondían al cestodo de *T. pisiformis* se procedió llevar acabo una infección piloto empleando 4 conejos, finalmente a los 7 días post infección todos los conejos presentaron tanto lesiones hepáticas como metacéstodos de *T. pisiformis*.

H) Infección por vía oral con huevos de *T. pisiformis*

Con una sonda estéril flexible se procedió a infectar por vía oral a los 10 animales, al resto de conejas se les aplicó el mismo procedimiento pero

únicamente se les administró Solución salina fisiológica (SSF), los animales previo a la infección se tranquilizaron utilizando ketamina (30-40mg/Kg.) por vía IM. En todos los casos se tuvo especial cuidado de verificar mediante la palpación que la sonda se encontraba en el estómago (Flatt y Moses, 1975; Worley, 1974). La dosis infectante por conejo fue de 3,000 huevos (Worley, 1974).

i) Estudio conductual

Conducta Individual

Con la finalidad de observar parámetros relativos al comportamiento individual se utilizó la estrategia de muestreo focal mediante un registro continuo; este muestreo focal consiste en registrar la actividad que un sujeto desempeña al momento de la observación, (Chu, 2004), para lo cual se emplearon dos cámaras de video colocadas de manera tal que se pudiera observar simultáneamente a las 10 jaulas que contenían a las conejas empleadas en el experimento (Figura 2 y 3).

Figura 2. Jaulas observadas con la cámara 1



Figura 3. Jaulas observadas con la cámara 2



Se registró la duración de la actividad realizada por las conejas de ambos grupos en un periodo de 19:00 a las 21:00h ya que los conejos son animales de hábitos crepusculares (Torres, 1987), acumulando un total de 44 horas de grabación durante el experimento a partir de las 48 hrs. post infección.

Los videos fueron analizados por 2 observadores y se utilizaron hojas de registro que contenían los siguientes parámetros según lo descrito por (Podberscek y col, 1991):

Cuadro 1. Resumen de las conductas individuales evaluadas en conejos infectados con *T. pisiformis*.

Actividad Evaluada	Definición
Permanencia en el bebedero	Acercarse al bebedero, meter la cabeza en el.
Permanencia en el comedero	Acercarse al comedero, meter la cabeza en el.
Acicalarse	Movimientos repetitivos de los dientes sobre el pelo
Echarse	El cuerpo Esta apoyado sobre los cuatro miembros flexionados

J) Valoración de la Receptividad de las conejas infectadas y sin infectar hacia el macho.

Para la evaluación de la receptividad sexual se utilizó 1 macho de la raza Chinchilla, con un peso promedio de 3 Kg. sexualmente maduro, el cual contaba con experiencia para montar.

La prueba consistió en introducir de manera simultánea a una coneja tanto infectada como sin infectar a la jaula en la que se encontraba el macho, para posteriormente registrar que hembra era montada en un periodo de un minuto y medio.

Esta prueba se llevo a cabo en los días 2, 7, 11, 14, 17, 21 y 23 post infección.

K) Evaluación de jerarquía

Esta evaluación consistió en retirar el alimento por 5 horas y posteriormente permitir el acceso de las conejas al mismo. Se observó que coneja era capaz de desplazar a su compañera y consumir alimento primero.

La evaluación se efectuó 48 hrs. antes de la infección y en los días 4, 9, 15, 20 y 24 post infección.

Para evaluar las posibles modificaciones en la jerarquía se utilizó la fórmula de índice de desplazamiento (Galindo y Orihuela, 2004).

.

Índice de Desplazamiento:

número de veces que desplaza

I.D. = _____

Núm de veces que desplaza + número de veces que es desplazada

L) Obtención de muestras sanguíneas

Se tomaron muestras de sangre por vía intracardiaca a los animales de ambos grupos antes de la infección y en los días 7, 14 y 25 post infección para realizar el estudio hematológico y de función hepática.

Estudio hematológico

Las muestras sanguíneas destinadas para esta prueba contenían anticoagulante EDTA con un volumen total de 3 ml por muestra y se encontraban identificadas. Con la finalidad de que la muestra se homogenizara con el anticoagulante se agitaron de manera constante.

Las muestras fueron mantenidas en todo momento a 4 °C e inmediatamente después de ser tomadas se procedió a su procesamiento en el laboratorio² para efectuar las determinaciones correspondientes.

Para la medición de los parámetros hematológicos se uso un contador celular Coulter Counter® T-540 (Coulter Electronics, Inc. Florida, USA).

Para esta prueba se evaluaron los siguientes analitos: leucocitos, heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

² Laboratorios Experto

Perfil hepático

Para este ensayo se emplearon muestras de sangre sin anticoagulante, que fueron centrifugadas a 3,000 r.p.m. durante media hora. El suero obtenido se almacenó en micro tubos a una temperatura -18 °C. (Helmutt, 1998).

Para la prueba del perfil hepático se utilizó un aparato de Cobas Mira® Chemistry Analyzer (Roche Diagnostic Systems, Inc. New Jersey, USA) y se analizaron los siguientes analitos: Bilirrubinas Totales, Bilirrubina Conjugada y No Conjugada, Alanin Amino Transferasa, Aspartato Amino Transferasa y Fosfatasa Alcalina.

M) Pesos

Para determinar el peso de las conejas se empleó una balanza digital, el registro se llevó a cabo a las 12 p.m. durante todos los pesajes; los pesos fueron estimados en los días 1 pre infección; y en los días 1, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 21 y 24 post infección.

N) Sacrificio

Las conejas se sacrificaron de manera humanitaria, utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (100mg/Kg) administrada por vía intracardiaca al día 25 post infección (Flores y col, 2003).

O) Necropsias

Se llevaron a cabo registros de la presencia de cisticercos vesiculares y lesiones granulomatosas ocasionadas por la presencia del parásito; la técnica de la necropsia fue llevada a cabo según Flores y col, 2003.

P) Análisis estadístico

Dado que los resultados de comportamiento no tienen una distribución normal se usaron pruebas estadísticas no paramétricas. Se utilizó la prueba de “U” de Mann Whitney para comparar la conducta individual; para la evaluación de jerarquías y receptividad sexual se utilizó la prueba del signo entre dos grupos.

La comparación de los valores hematológicos y del perfil hepático se analizaron por medio del análisis de varianza de una vía, utilizando el procedimiento de comparación de medias por segmento (Tukey), mientras que para la comparación del peso se utilizó una prueba de t de “student” con significancia estadística ($P < 0.05$). (Martin and Bateson, 1993; Daniel, 1996).

VIII. RESULTADOS

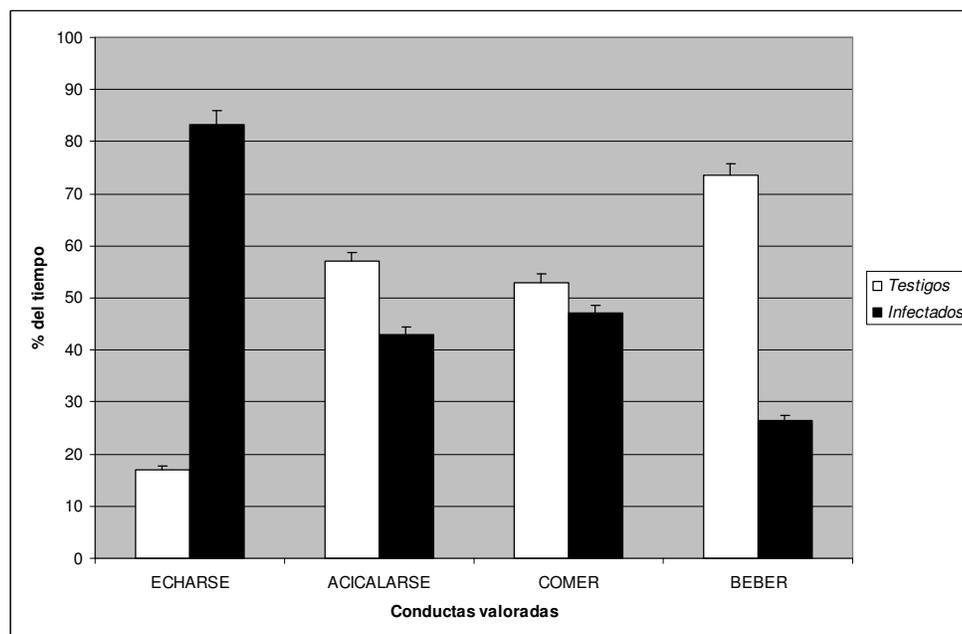
Estudio conductual

A) Conducta individual

Al comparar las conductas individuales entre las conejas del grupo testigo y las infectadas se observó que, las conejas sin infectar dedicaron a echarse el 17% del tiempo, mientras que las infectadas se dedicaron un 83% del tiempo a esta conducta ($P < 0.05$) lo que indica que las conejas infectadas permanecen echadas más tiempo (Figura 2).

En caso de los acicalamientos las conejas del grupo testigo se acicalaron 57% del tiempo proporcional, en tanto que las infectadas dedicaron 43% ($P < 0.05$). En cuanto al tiempo que utilizaron en permanecer en el comedero no existieron diferencias significativas, pero en el tiempo que permanecieron en el bebedero las conejas infectadas dedicaron 48% menos del tiempo proporcional en realizar esta actividad ($P < 0.05$) por lo cual el tiempo que permanecieron en el bebedero disminuyó en las conejas infectadas. (Figura 4).

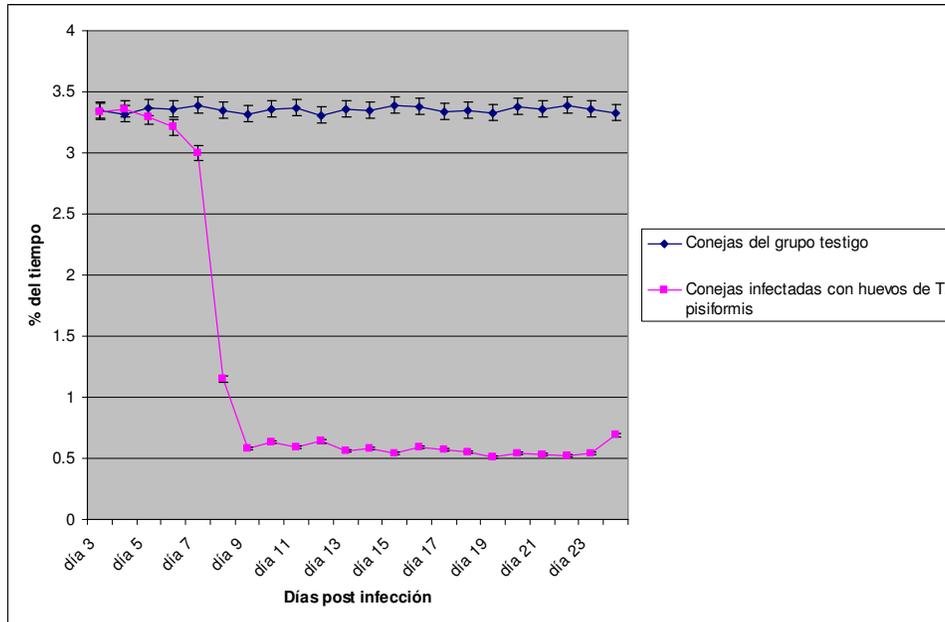
Figura 4. Conducta individual en conejas del grupo testigo y conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*.



Los valores presentados son mediana \pm ES (n=10) por grupo. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en echarse ($P<0.001$), acicalarse ($P<0.05$) y beber ($P<0.01$). Prueba de Mann-Whitney.

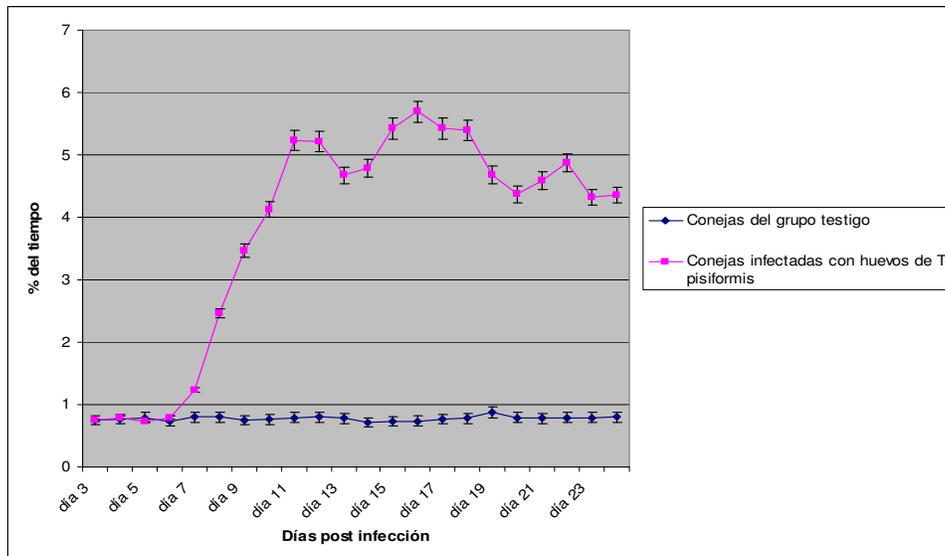
En el caso de la duración en el bebedero se observa una disminución a partir del día 6 post infección en las conejas infectadas (Figura 5) y en el día 7 post infección inician a permanecer más tiempo echadas en comparación al grupo testigo como se observa en la figura 6; mientras que en la conducta de acicalamientos se disminuye en las conejas infectadas a partir del día 8 post infección, en relación al grupo testigo (Figura 7) por último en la duración de permanencia en el comedero no existieron diferencias significativas (figura 8).

Figura 5. Modificaciones en el tiempo de permanencia en el bebedero a los 25 días post infección.



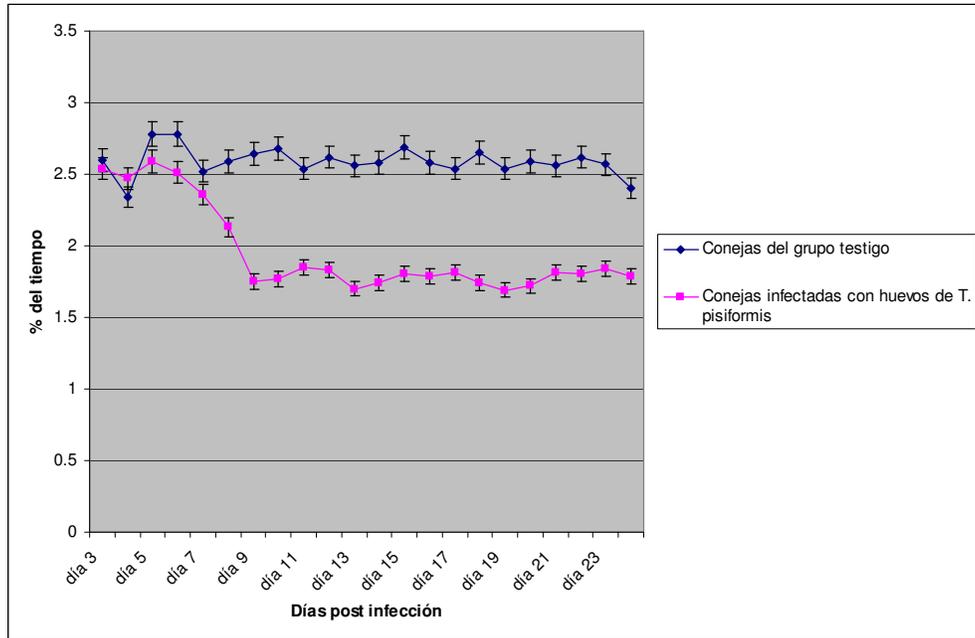
Los valores graficados son mediana \pm ES. A partir del día 6 se encontraron diferencias estadísticas. $P < 0.05$.

Figura 6. Modificaciones en la conducta de echarse a los 25 días post infección.



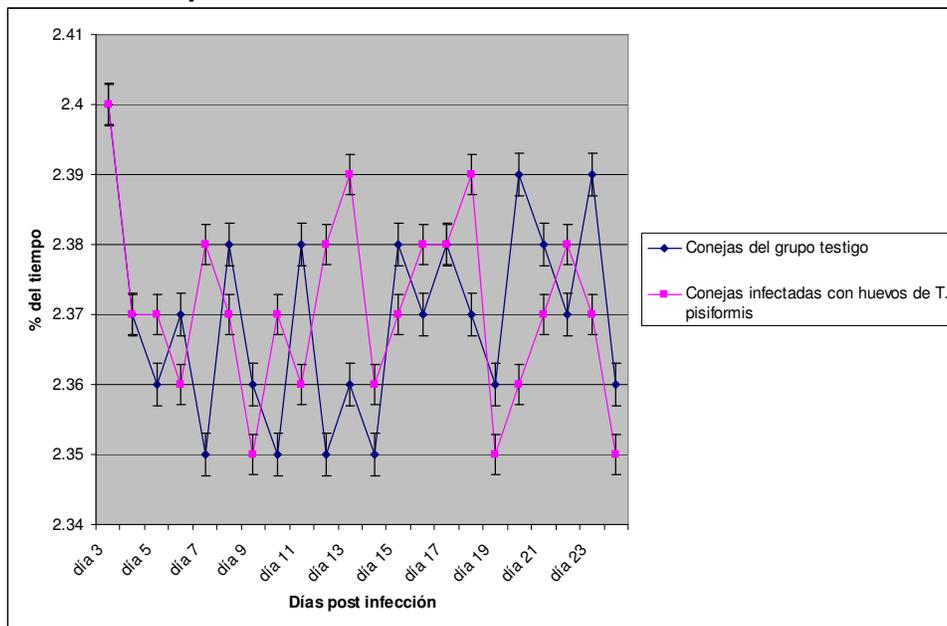
Los valores graficados son mediana \pm ES. A partir del día 7 se encontraron diferencias estadísticas. $P < 0.05$.

Figura 7. Modificaciones en la conducta de acicalamiento a los 25 días post infección.



Los valores graficados son mediana \pm ES. A partir de 1 día 8 se encontraron diferencias estadísticas. $P < 0.05$.

Figura 8. Modificaciones en el tiempo de permanencia en el comedero a los 25 días post infección.



Los valores observados son mediana \pm ES.

B) Evaluación de Jerarquías

Al evaluarse las jerarquías en un tiempo de 48 hrs. previo a la infección con 3,000 huevos de *T. pisiformis* se observó que conejas desplazaban a su compañera, los resultados se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Número de desplazamientos de 20 conejas 48 hrs. antes de la infección con huevos de *T. pisiformis*.

# de coneja	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
48 hrs. Pre infección	E	0	E	0	E	0	0	E	0	E	0	E	E	0	0	E	E	0	E	0

Éxitos por la competencia en el alimento (E), Fracasos por la competencia en el alimento (0).

Los efectos en la jerarquía traducidos en la capacidad de desplazar a su compañera en los días 4, 9, 15, 20 y 24 se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Número e Índice de desplazamientos entre conejas del grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis*.

	1(i)	2	3	4(i)	5(i)	6	7(i)	8	9(i)	10	11	12(i)	13(i)	14	15	16(i)	17	18(i)	19	20(i)
Días post infección																				
4	E	0	E	0	E	0	E	0	0	E	0	E	E	0	0	E	0	E	0	E
9	0	E	E	0	E	0	0	E	0	E	0	E	E	0	E	0	E	0	E	0
15	0	E	0	E	E	0	0	E	0	E	0	E	E	0	E	0	E	0	E	0
20	0	E	0	E	E	0	0	E	0	E	0	E	E	0	E	0	0	E	E	0
24	0	E	0	E	E	0	0	E	0	E	0	E	E	0	E	0	0	E	0	E
Total de desplazamientos	2	4	3	3	6	0	1	5	0	6	0	6	6	0	4	2	3	3	4	2
índice de Desplazamientos	.2	.8	.4	.6	1	0	.2	.8	0	1	0	1	1	0	.8	.2	.4	.6	.6	.4

Las conejas fueron alojadas por pares. Conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* (i), Éxitos por la competencia en el alimento (E), Fracasos por la competencia en el alimento (0).

Destaca que en el día 9 se observa que 3 conejas pasan de ser dominantes a subordinadas, ya que fueron desplazadas, en el día 15 post-infección 2 conejas conservaron su condición de desplazadas observada en el día 9. Al final de la infección existió una tendencia en la cual se

invierte la jerarquía de 2 conejas infectadas, es decir las que fueron dominantes el primer día pre infección después de ser sometidas a la infección durante 24 días pasaron a ser conejas subordinadas en términos de permitir que las desplazaran, aunque no fue significativo (Cuadro 3).

En el caso de los resultados de los índices de desplazamiento, existió el mismo número de conejas de ambos grupos con índice de desplazamiento mayor a 0.6; es decir no existió un grupo dominante sobre otro a los 25 días post infección (Cuadro 3).

C) Evaluación de la receptividad sexual

Las montas efectuadas por el macho se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Número de montas realizadas a conejas del grupo testigo y conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*

	1 (i)	2	3	4 (i)	5 (i)	6	7 (i)	8	9 (i)	10	11	12 (i)	13 (i)	14	15	16 (i)	17	18 (i)	19	20 (i)
# de montas recibidas	2	0	1	1	3	1	0	1	0	3	0	2	2	0	1	1	2	0	1	1

Conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* (i).

Al respecto no se observaron diferencias entre el número de montas que recibieron las conejas infectadas y sin infectar

D) Estudio hematológico

La evaluación de la línea blanca se observa en el cuadro 5.

Cuadro 5. Valores hematológicos obtenidos de grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis* a los 0, 7, 14 y 25 días post infección.

Analito	Testigos	Día 7	día 14	día 25	Significancia
LEUCOCITOS X10 ⁹ /L	5.18± 0.32 ^d	5.65± 0.48	6.80± 0.38	7.27± 0.52 ^a	P<0.05
HETEROFILOS %	53.26± 2.57 ^d	62.18± 4.56 ^d	42.5± 3.82	33.3± 3.41 ^{ab}	P<0.05
LINFOCITOS %	41.21± 2.29 ^d	40.54± 7.76	49.9± 4	57.5± 4.55 ^a	P<0.05
MONOCITOS %	1.71± 0.24	1.18± 0.40	3.8± 0.84	3.7± 0.89	No significativo
EOSINOFILOS %	1.10± 0.19	1.09± 0.36	1.1± 0.37	1.1± 0.10	No significativo
BASOFILOS %	.90± 0.24 ^d	.98 ^{c,d}	2.5± 0.89 ^b	2.4± 0.45 ^{a,b}	P<0.001

Los valores mostrados son media± ES. Prueba de ANOVA

Los Leucocitos totales mostraron un incremento significativo (P<0.05) máximo al día 25 post infección, respecto al grupo testigo. Los heterófilos presentaron una diferencia significativa entre el grupo testigo y el día 25, y en el día 7 respecto al grupo testigo (P<0.05). Los linfocitos presentan la misma tendencia que los leucocitos totales de incrementarse en los diferentes días del muestreo, existiendo una diferencia estadística entre el grupo testigo y el día 25 post-infección (P<0.05) (Cuadro 5).

En los valores obtenidos para los monocitos y eosinófilos no hubo diferencia significativa; por último los basófilos presentan un aumento en el día 14 y 25 post-infección (P<0.001) (Cuadro 5).

E) Evaluación del perfil hepático

Los resultados del perfil hepático en Bilirrubinas Totales, Conjugada y no Conjugada presentan sus valores más bajos en el día 14 post infección existiendo una diferencia significativa en los 3 analitos(P<0.05), para el día

25 post infección presentan un incremento significativo en sus valores (P<0.05) (Cuadro 6).

Los valores de Alanin amino transferasa (ALT) presentan diferencias entre el grupo testigo, día 7 y 25 post-infección (P<0.001), mientras que en los resultados de la enzima Aspartato amino transferasa (AST) no existieron diferencias significativas; por último en la fosfatasa alcalina existe una diferencia estadística (P<0.001) presentando su valor más alto en el día 7 post infección manteniéndose a lo largo del experimento (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores del perfil hepático obtenidos de grupo testigo y conejas infectadas por huevos de *T. pisiformis* a los días 0, 7, 14 y 25 post infección.

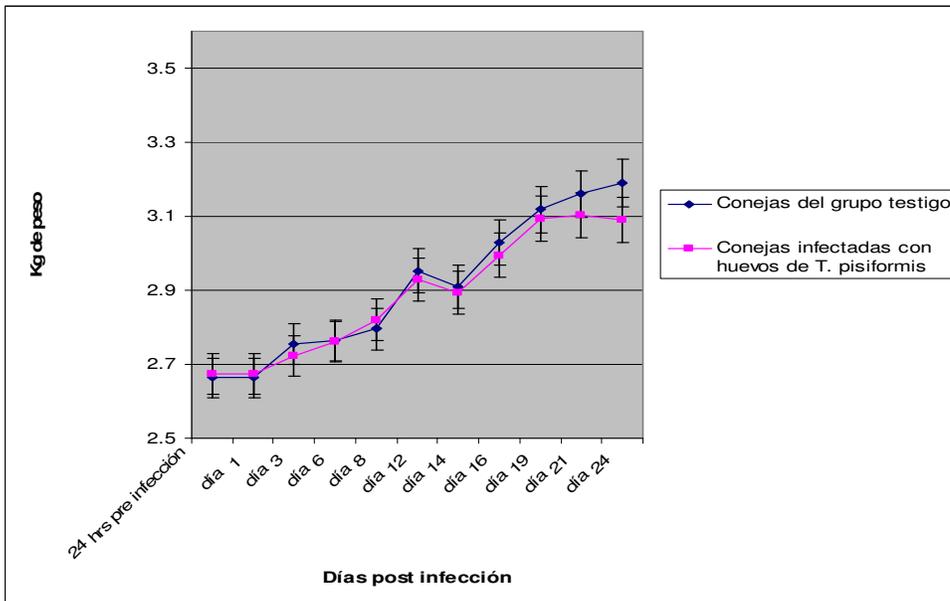
Analito		Testigos	día 7	día 14	día 25	Significancia
BILIRRUBINA T. BIL.	μmol/L	4.58± 0.87	2.03± 0.16 ^d	1.73± 0.14 ^d	5.64± 0.69 ^{b,c}	P<0.05
CONJUGADA. B. NO	μmol/L	3.89± 0.82	1.66± 0.15 ^d	1.80± 0.16 ^d	4.31± 0.54 ^{b,c}	P<0.05
CONJUGADA	μmol/L	0.69± 0.14	0.33± 0.05	0.28± 0.02 ^d	1± 0.16 ^c	P<0.05
ALT	U/L	31.03± 2.78 ^b	10.5± 1.22 ^{a,d}	24.2± 1.87	39.55± 2.92	P<0.001
AST	U/L	18.88± .01	21.9± 1.66	14.7± 0.88	20.66± 1.84	No significativo
F. ALCALINA	U/L	104.77± 7.54	170.3± 19.84 ^a	175.3± 20.51 ^a	163.11± 7.77 ^a	P<0.001

Los valores mostrados son media ± ES. Prueba de ANOVA

F) Evaluación de los registros de peso

Respecto al peso de los animales no se observaron diferencias estadísticas entre los dos grupos pero hay que destacar que al final del experimento las conejas infectadas tenían un peso menor que las del grupo testigo como se observa en la figura 10.

Figura 9. Registro de pesos de conejas sin infectar e infectadas con huevos de *T. pisiformis*.



G) Hallazgos a la Necropsia

Las lesiones hepáticas y metacéstodos vesiculares encontrados a la necropsia se pueden observar en las figuras 8 y 9.



Figura 10. Lesiones hepáticas provocadas por las oncósferas de *T. pisiformis*. Ver la flecha.

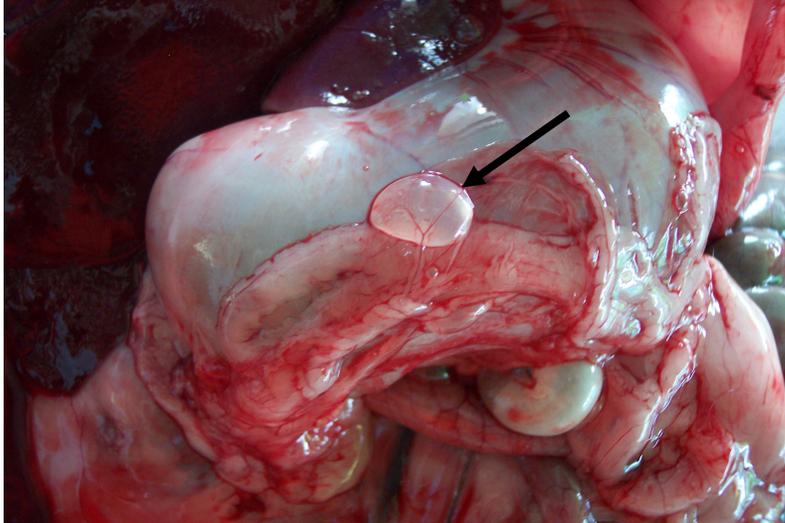


Figura 11. Presencia de un metacéstodo en estado vesicular sobre el mesenterio. Ver la flecha.

IX. DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que en la conducta individual el tiempo que las conejas infectadas dedicaron en permanecer echadas fue mayor, mientras que en acicalarse y en consumir agua fue menor con respecto a los animales no infectados, cabe destacar que la conducta más afectada fue la de echarse, esto coincide con lo referido previamente, ya que cuando un animal enfermo se encuentra bajo la influencia de un proceso infeccioso agudo tiende a permanecer más tiempo echado que el resto de sus compañeros (Johnson, 2004; Dantzer 2004).

Al analizar de manera específica a que tiempo post infección se inician las modificaciones en la conducta de conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* se observa que la primera conducta en ser alterada es el tiempo en permanecer en el bebedero al día 6 post infección ($P < .05$), seguido de la conducta de echarse a los 7 días post infección ($P < .05$) y de acicalamiento a los 8 días post infección ($P < .05$), esto indica que los animales empiezan a manifestar cambios conductuales relacionados con el comportamiento del animal enfermo a partir del día 6 post infección.

Con respecto a la duración en el comedero no se identificaron diferencias estadísticas, lo que difiere para la inclusión de alimento por parte de un animal enfermo, en donde estos dejan de comer, aunque esta condición no es una generalidad ya que en algunas ocasiones lo modulan, es decir el consumo de carbohidratos prevalece sobre otros (Aubert, 1995).

Las diferencias observadas en el tiempo de permanencia en el comedero de acuerdo a otros trabajos, se puede atribuir a que la mayoría de los estudios relativos al comportamiento del animal enfermo han sido llevados a cabo en especies como el ratón y la rata, utilizando como estímulo inductor del comportamiento del animal enfermo diversas dosis de LPS o citocinas pro inflamatorias como la Interleucina 1- β aplicándose de manera directa al cerebro por lo que al parecer el efecto es más efectivo que en una infección por patógenos (Dantzer, 2004).

Se ha referido que ciertas enfermedades parasitarias ocasionadas por protozoarios como *Toxoplasma gondii* y *Tripanosoma cruzi* en ratones poseen la capacidad de convertir animales dominantes en sumisos (Arnott, 1990; Kristensson, 2002), en el caso de los resultados obtenidos en las jerarquías, estos contrastan con un ensayo realizado en 2006 (Hamada) donde se emplearon ratones y se estableció cuales eran dominantes y sumisos, al administrar LPS al grupo dominante este experimentó cambios en su conducta y pasó a ser sumiso, en el caso de las conejas infectadas con *T. pisiformis* este efecto de conversión no se produjo a los 25 días post infección.

Es importante mencionar que los cambios observados en las jerarquías no fueron estadísticamente significativos, así como los resultados en el índice de desplazamiento no se observa un grupo dominante, lo que en un futuro abre diversas líneas de investigación enfocadas a valorar el efecto de la

infección con huevos de *Taenia pisiformis* en periodos más largos post infección o infecciones más severas.

En relación a las parasitosis en general, se ha documentado que los parásitos manipulan el comportamiento individual y social de sus huéspedes para incrementar la probabilidad de transmisión a otro huésped (Klein, 2003), se ha observado que los cambios en el comportamiento del huésped mediados por el parásito también dependen del ciclo de vida de este, es decir si el parásito es de ciclo directo, la supervivencia y éxito de reproducción en otro huésped es mayor que en parásitos de ciclo indirecto como es el caso de la *T. pisiformis* donde la predación es vital para completar el ciclo (Kavaliers et al, 2000., Fenton, 2004).

Actualmente se ha propuesto una hipótesis alternativa sobre los cambios conductuales en los huéspedes ocasionados por el parásito; esta indica que la producción de citocinas proinflamatorias provocan la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y de neurotransmisores que median la expresión de los cambios en el comportamiento de los animales infectados con algún agente patógeno (Thomas, 2005).

En los ensayos llevados a cabo para valorar la receptividad hacia al macho de conejas infectadas y no infectadas a los 25 días post infección, no se observaron diferencias, lo que difiere con lo observado en el modelo de *T. crassiceps* ya que en este caso, la infección alteró de manera negativa la

receptividad y capacidad de reproducirse por parte de los huéspedes (Larralde, 1995).

La divergencia observada con respecto a la receptividad sexual se puede explicar ya que en el presente estudio se emplearon huevos de *T. pisiformis* extraídos a partir del céstodo adulto de la *T. pisiformis* tipo silvestre y se infecto por vía oral como ocurre naturalmente en el ciclo y en el ensayo en el que se empleo a la *T. crassiceps* la cepa utilizada es una cepa de laboratorio denominada ORF que carece de escólex, adicionalmente la infección no se efectúa con huevos sino con metacéstodos de *T. crassiceps* en estado vesicular que son inyectados en el peritoneo de cada ratón y que al crecer disminuyen la receptividad y capacidad de gestación (Larralde, 1995).

En el caso de los parásitos afectar la reproducción de sus huéspedes a tal grado de impedir su reproducción limitaría la cantidad de huéspedes posibles que infectar, factor que desde hace varios años habría eliminado a los parásitos.

Los leucocitos totales se incrementaron al día 25 post infección, este incremento fue gradual e inicio desde el día 7 post infección en conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* esta observación coincide con un estudio llevado a cabo en cabras en el cual se encontró un incremento de leucocitos acompañado de un incremento de linfocitos y monocitos (Caballero y col, 1987).

Específicamente para los céstodos existe un estudio en el que se infectó con huevos de *T. solium*. Se observó un incremento significativo en los leucocitos totales y los linfocitos a los 30 días post infección por vía oral (Royo, 1996), lo cual coincide con el presente estudio ya que tanto los leucocitos como linfocitos totales experimentaron un incremento a los 25 días post infección.

Este incremento si bien no es específico de enfermedades parasitarias pudiera ser de utilidad para orientar el diagnóstico de la parasitosis

El hallazgo de un aumento en los leucocitos (leucocitosis) se ha asociado a procesos infecciosos agudos (Jain, 1993), los linfocitos poseen la capacidad de secretar citocinas como la IL-6 e IL-8 así como el factor de necrosis tumoral, estas citocinas son pro inflamatorias y tienen la capacidad de generar en el modelo murino conductas propias del comportamiento del animal enfermo por lo que se ha propuesto que son los mediadores químicos que lo originan (Krueger, 1994; Laye, 1994; Krueger, 2003) . En este sentido es pertinente mencionar que el incremento en los linfocitos fue significativo hasta el día 25 post infección pero que de manera gradual desde el día 7 y 14 se observó un incremento en conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis*.

Se debe tomar en cuenta que aunque el incremento en linfocitos desde el punto de vista estadístico no fue significativo desde el día 7 post infección,

existe la posibilidad de que el incremento en citocinas pro inflamatorias haya sido suficiente para provocar modificaciones en las conductas de beber a los 6 días, permanecer echadas a los 7 días y de acicalarse a los 8 días post infección, la disminución en estas conductas inició en estos periodos de tiempo y en el transcurso de la infección se fue incrementando hasta el día 25 post infección.

Cuando se valoraron en el presente estudio las jerarquías en conejas infectadas, se observó una inversión en la cual las conejas que desplazaban pasaron a ser desplazadas, el inicio de este fenómeno según los tiempos evaluados fue al día 9, lo que indica que esta conducta se ve afectada de manera más tardía que la conducta individual y que se presenta de manera posterior al incremento de los linfocitos.

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto se sugiere en un futuro cuantificar la cantidad de citocinas pro inflamatorias en los diversos días post infección con huevos de *T. pisiformis*.

En el caso de los monocitos y eosinófilos no existieron diferencias significativas, no obstante que en otras parasitosis se ha referido que la eosinofilia desempeña un papel muy importante, se sabe que la eosinofilia se encuentra asociada a infecciones parasitarias, aunque se reporta que esto no ocurre en todas las parasitosis, y además esta eosinofilia se encuentra asociada al estado de desarrollo del parásito (Shulte, 2002).

En el caso de los heterófilos se incrementaron al día 7 post infección, este resultado coincide con lo observado por Pérez-torres y col (2002). Cuando se evaluó la respuesta inflamatoria, donde mencionan que una respuesta inflamatoria a nivel local en músculo de cerdos presenta un incremento significativo de heterófilos.

Los basófilos participan en la reacción de hipersensibilidad inmediata y a diferencia de los neutrófilos y los monocitos, los basófilos no son fagocíticos y son productores de histamina, en las conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* se observó una basofilia a los días 14 y 25 post infección, lo que coincide con lo observado en parasitosis tales como *Ancylostoma caninum* que presentan una fase migratoria (Merman, 1987). Es importante destacar que la infección con *T. pisiformis* presenta un cuadro migratorio.

En el caso de las bilirrubinas totales, conjugada y no conjugada su incremento máximo fue en el día 25 post infección, se refiere que en enfermedades ocasionadas por *Fasciola hepática* y por *Ascaris suum* existe un incremento en estos valores en enfermedades crónicas (Maco, 2003), en el caso de la infección con huevos de *T. pisiformis* estos valores coinciden a los 25 días post infección, por lo que pueden ser indicativos de una ictericia posthepática u obstructiva.

En los niveles de Alanin amino transferasa (ALT), su incremento máximo fue al día 25 post infección, y se asocia a una necrosis en hepatocitos, aunque en procesos crónicos su incremento no es significativo, en un

ensayo realizado en venados infectados con *Fasciola hepática* se encontraron valores aumentados en la medición de la ALT (Presidente, 1975), aunque en enfermedades parasitarias no se ha referido su importancia diagnóstica (Vengust y col., 2003).

Los niveles de Aspartato amino transferasa (AST) no sufrieron modificaciones durante los 25 días post infección, se ha documentado que estos valores aumentan en enfermedades hepáticas (Sykes, 1980). Sin embargo diversos autores señalan que esta enzima no sufre cambios en el caso de enfermedades parasitarias (Anderson, 1977, 1981; Simesen, 1974)

Aunque es importante destacar que en las hepatitis agudas estas la ALT y la AST presentan un incremento importante ya que son indicativas de una necrosis hepática (Kraft, 1998).

Las oncósferas del parásito en su paso por el hígado son delimitadas por células inflamatorias ocasionando granulomas, es decir se presenta una hepatitis aguda (Flatt y Moses, 1975), aunque la medición de estas enzimas no permite establecer ciertamente un diagnóstico específico, si permite valorar el funcionamiento hepático.

En el caso de la Fosfatasa alcalina se observó que este incremento máximo se produce en el día 7 post infección lo que puede ser indicativo de la presencia de una obstrucción por parte del parásito en el tejido hepático.

La Fosfatasa alcalina es un indicador muy importante de colestasis, por lo que se ha sugerido como un analito vital en la obstrucción intrahepática o extrahepática, donde al parecer son los hepatocitos los mayores contribuyentes; Hernández y col. (1999) encontraron un incremento significativo de esta enzima en ovinos infectados por *Fasciola hepática*. Así mismo Vengust y col. (2003) mencionan un incremento de esta enzima en venados infectados por *Fasciola hepática*, por lo que se ha propuesto a esta enzima como un analito de referencia en enfermedades parasitarias con migración hepática (Conboy, 1991).

En la ganancia de peso no existieron diferencias significativa, pero hay que destacar que al final del experimento la coneja con más peso tuvo 3.424 Kg. que perteneció al grupo testigo mientras que la de menor peso que fue de las conejas infectadas fue de 2,680 Kg., es decir una diferencia de 0.744 gr. que a nivel de producción animal significan pérdidas para el productor ya que si tomamos en cuenta que actualmente el kilo esta en \$35 pesos, existe una pérdida de \$26 pesos si se venden las conejas infectadas.

En el caso de la infección con metacéstodos de *T. solium* en el cerdo no existen estudios donde se hayan valorado los posibles efectos que la infección tenga en el peso. En el hecho de que se haya referido que las parasitosis provoquen una disminución en el peso puede ser una constancia que no se refleje en absolutamente todas las enfermedades parasitarias.

Hasta la fecha no existen trabajos científicos que documenten el efecto que una infección con huevos de *T. pisiformis* pueda tener en las conductas individuales como echarse, acicalarse, tiempo de permanencia en el bebedero y comedero; y su relación con las modificaciones existentes a nivel hemático y hepático, por lo que este grado de avance del conocimiento confirma la originalidad de la presente tesis.

Los hallazgos referidos en conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* en este estudio se resumen en el cuadro 7.

Cuadro 7. Hallazgos en conejas infectadas con huevos de *T. pisiformis* a los 25 días post infección.

Días post infección	Conducta Individual	Hemograma	Perfil hepático
6	↓ del tiempo en permanecer en el bebedero		
7	↑ del tiempo en permanecer echadas	↑ Heterófilos	↓ ALT ↑ Fosfatasa alcalina
8	↓ del tiempo en dedicarse a acicalar		
14		↓ Heterófilos ↑ Basófilos	↑ ALT ↓ Fosfatasa alcalina
25		↑ Linfocitos	↑ Bilirrubinas totales ↑ Bilirrubina conjugada ↑ Bilirrubina no conjugada ↑ ALT

Tras analizarlos se desprende que estos cambios pueden ser de utilidad para el campo de la etología aplicada a la clínica

X. REFERENCIAS

1. Anderson PH, Berret S, Brush PJ, Hebert CN, Parfit JW. Biochemical indicators of liver injury in calves with experimental fascioliasis. *Vet. Rec.* 1977;15:43-45.
2. Anderson PH, Mathews JG, Berret S, Brush PJ, Patterson DS. Changes in plasma enzyme activities and other blood components in response to acute and chronic liver damage in cattle. *Res. Vet. Sci.* 1981;31:1-4.
3. Arnott MA, Casella JP, Aitken PP, Hay J. Social interactions of mice with congenital *Toxoplasma* infection. *Am Trop Med Parasitol.* 1990; 84:149-156.
4. Aubert A, Goodall G, Dantzer R. Compared effects of cold ambient temperature and cytokines on macronutrient intake in rats. *Physiol Behav* 1995;57:869-873.
5. Aubert A, Goodall I, Dantzer R, Gheusi G. Differential effects of lipopolysaccharide on pup retrieving and nest building in lactating mice *Brain Behav. Immun.* 1997;11:107-118.
6. Cabellero Bolaños Sergio. Valores Hematológicos en cabras con y sin programa de desparasitación. Tesis de licenciatura, UNAM ,1987.
7. Chu L, Garner JP and Mench JA. A behavioral comparison of New Zealand White rabbit housed individually or in pairs in conventional laboratory cages. 2004;85:121-139.
8. Conboy GA, Stromberg BE. Hematology and clinical pathology of experimental *Fascioloides magna* infection in cattle and guinea pigs. *Vet. Parasitol.* 1991;40:241-255.

9. Cordero del Campillo M. Parasitología veterinaria. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 1999.
10. Craig PS. Surface-associated proteins and host IgG on early and late metacestode stages of *Taenia pisiformis*. Parasite Immunol. 1988;10:243-254.
11. Daniel W. Bioestadística. Noriega editors, 1996.
12. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: neuroimmune response to activation of innate immunity. European Journal of Pharmacology 2004;500:399-411.
13. de Aluja A and Vargas G. The histopathology of porcine cisticercosis. Vet. Parasitol. 1998;28(1-2):65-77.
14. Dunn Angus. Helminología Veterinaria. México. Ed. Manual Moderno, 1983.
15. Euzéby Jacques. Los parásitos de las carnes: epidemiología, fisiopatología, incidencias zoonóticas. Zaragoza, España, Ed acribia, 2000.
16. Fenton A and Rands SA. Optimal parasite infection strategies: a state-dependent approach. International journal for Parasitology 2004;34:813-821.
17. Flatt R and Moses R. Lesions of experimental cisticercosis in domestic rabbits. Lab Anim Sci. 1975;25:162-167.
18. Flores-Pérez FI., Rosas- Velasco C., Lavielle Rosa E., Pérez-Martínez Mario. Daños histológicos en hígados de conejos infectados experimentalmente con el metacestodo de *Taenia pisiformis*: resultados

- preliminares. III Congreso Internacional de Epidemiología. Oaxaca. 2003 .pag.656-662 .
19. Fox James G. Laboratory Animal Medicine. Academic Press, INC, 1984.
 20. Fuentes VO, Villagran C, Navarro J. Sexual behavior of male New Zealand white rabbits in an intensive production unit. Anim. Reprod Sci. 2004;80(1-2):157-162.
 21. Galindo FA and Orihuela A. Etología aplicada. México, D.F.: UNAM, 2004.
 22. Gonzalez-Mariscal G, Chirino R, Rosenblatt JS, Beyer C. Forebrain implants of stradiol stimulate maternal nest-building in ovariectomized rabbits. Horm Behav. 2005;47(3):272-279.
 23. Gonzalez-Mariscal G. Mother rabbits and their offspring: timing is everything. Dev Psychobiol. 2007;49(1):71-76.
 24. Harkness John E. The biology and medicine of rabbits and rodents. Williams and Wilkins, 1995.
 25. Hart BL. Biological basis of the behavior of sick animals. Neurosci. Biobehav. Rev. 1988;12:123-137.
 26. Helmunt K. Métodos de laboratorio clínico en medicina veterinaria de mamíferos domésticos. Ed. Acribia, 1998.
 27. Hernández Valdes Fernando. Perfil hepático y niveles de anticuerpos específicos en ovinos de la posta zootecnica de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia infestados naturalmente por *Fasciola hepatica* . Tesis de Licenciatura, UAEM, 1999.

28. Hutchings RH, Athanasiadou S, Kyriazakis I, and Gordon IJ (2003) Can animals use foraging behaviour to combat parasites? Proceedings of the nutrition Society. 62: 361-370.
29. Jain C. Nemi. Essential of Veterinary Hematology. Edit. Lea & Febiger, 1993.
30. Jiménez P, Valdez RA and Romano MC. Metabolism of steroid hormones by *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* cysticerci. J Steroid Biochem Mol Biol 2006;99:203-208.
31. Johnson RW. The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. Veterinary Immunol and Immunopath. 2002;87:443-450.
32. Kavaliers M, Colwell DD and Choleris E. Parasites and behaviour: an ethopharmacological perspective. Parasitol Today 2000;16:464-468.
33. Klein SL. Parasite manipulation of the proximate mechanisms that mediate social behavior in vertebrates. Physiology & Behavior 2003;79:441-449.
34. Kongsman JP, Parnet P and Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. TRENDS in Neurosciences. 2002;25(3):154-159.
35. Kraft Helmut. Métodos de laboratorio clínico en medicina veterinaria de mamíferos domésticos. Ed. Acribia, 1998.
36. Kristennson K, Mhlanga JDM, Bentivoglio M. Parasites and the Brain: neuroinvasion, immunopathogenesis and neural dysfunction. Curr Top Microbiol Immunol. 2002;265:227-57.

37. Krueger JM, Majde JA. Microbial products and cytokines in sleep and fever regulation. *Crit. Rev. Immunol.* 1994;14:355-379.
38. Krueger JM, Majde JA, Obal F. Sleep in host defense. *Brain Behav Immun.* 2003;17(Suppl 1),S41-S47.
39. Larralde C, Morales J, Terrazas I, Govezensky T and Romano MC. Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995;52:575-580.
40. Larson SJ and Duna AJ. Behavioral effects of cytokines. *Brain, Behav. and Immunity.* 2001;15:371-387.
41. Laye S, Parnet P, Goujon E, Dantzer R. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1994;27:157-162.
42. Loeb Walter F. The clinical chemistry of laboratory animals. Taylor & Francis, 2nd edition, 1999.
43. Lukes S. Changes in the white blood Picture during experimental larval ascariasis, toxocariasis and toxascariasis. *Folia Parasitol (Praha).* 1985;32(3):237-245.
44. Maco V *et al.* Un caso de obstrucción de dren de Kehr por *Fasciola hepatica* en una paciente postcolecistectomizada por colangitis aguda. *Parasitol Latinoam.* 2003;58:152-158.
45. Martin Paul and Bateson Patrick. *Measuring Behaviour. An introducing guide.* 2nd edition. Cambridge University Press, 1993.
46. McNitt JI. *Rabbit production.* 8^a ed. Danville Illinois: Interstate, 2000.

47. Melman SA. Mast Cells and their mediators. Emphasis on their role in type I immediate hypersensitivity in canines. *Int. J. Dermatol.* 1987;25:335.
48. Miller NE. Some psychophysiological studies of motivation and of the behavioral effects of illness. *Bull. Brit. Psychol. Soc.* 1964;17:1-21.
49. Morales J, Larralde C, Arteaga M, Govezensky T, Romano MC and Morali G. Inhibition of sexual behavior in male mice infected with *Taenia crassiceps* cysticerci. *J Parasitol* 1996;82:689-693.
50. O'Connor KA, *et al.* Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor. *Brain Res* 2003;991;123-32.
51. Pavlova IV, Levshina IP, Vanetsian GL, Shuikin, NN, Zyablitseva EA. Behavior and measures of respiration in rabbits differing in terms of movement activity in an open field. *Neurosci Behav Physiol.* 2007;37(1):33-41.
52. Percy Dean H, Barthold W. Stephen. Pathology of laboratory rodents and rabbits. Iowa State Press, 2001.
53. Pérez-Torres Armando, Ustarroz Martha, Constantino Fernando, Villalobos Nelly y de Aluja Aline. *Taenia solium* cisticercosis: lymphocytes in the inflammatory reaction in naturally infected pigs. *Parasitol Res* 2002;88:150-152.
54. Podberscek AL, Blackshaw JK and Beattie AW. The behaviour of group penned and individually caged laboratory rabbits. *Applied animal Behaviour Science.* 1991;28:353-363.

55. Presidente PJ, McBraw BM, Lumsden JH. Experimentally induced *Fasciola hepatica* infection in white-tailed deer. I. Clinicopathological and parasitological features. *Can. J. Comp. Med.* 1975;39:155-165.
56. Quan N, Stern EL, Whiteside MB and Herkenham M. Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. *J Neuroimmunol* 1999;93:72-80.
57. Quiroz H. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México. Noriega editores. 1999.
58. Royo Martínez Roberto. Hemograma de cerdos inoculados experimentalmente con huevos de *Taenia solium*, UNAM, Tesis de Licenciatura, 1996.
59. Schulte C *et al.* Diagnostic significance of blood eosinophilia in returning travellers. *CID* 2002;34:407-411.
60. Simensen MG and Nansen P. Serum γ -glutamyl transpeptidase and aspartate aminotransferase activities in adult cattle with chronic *Fasciola hepatica* infection. *Acta Vet. Scan.* 1974;15:239-243.
61. Soulsby E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7^a ed. México: Interamericana; 1987.
62. Suárez E. and Orihuela A (2002) Aversive characteristics of five farm species feces measured under two behavioral tests. *Livestock Production Science.* 77:119-125.

63. Sugane K, Oshima T. Recovery of large numbers of eosinophils from mice infected with *Toxocara canis*. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29(5):799-802.
64. Sykes AR and Robinson MG. Chronic subclinical fascioliasis: plasma glutamate dehydrogenase gamma glutamyl transpeptidase and aspartate aminase activities and their significance as diagnostic acids. *Reach Vet. Sci* 1980;28:71-75.
65. Terrazas Valdés Luis Ignacio. Interacciones inmunoendócrinas en la cisticercosis experimental murina: mecanismos de colonización parasitaria. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. 1998.
66. Thomas F, Adamo S and Moore J. Parasitic manipulation: Where are we and where should we go?. *Behav. Process* 2005;68:185-199.
67. Torres Marco Gabriel. Etología del conejo. Estudio Recapitulativo. FMVZ-UNAM, 1987.
68. Vengust G, Klinkon M, Bidovec A and Vengust A. *Fasciola hepatica*: effects on blood constituents and liver minerals in fallow deer (*Dama dama*). *Veterinary parasitology* 2003;112:51-61.
69. Worley DE. Quantitative studies on the migration and development of taenia pisiformis larvae in laboratory rabbits. *Lab Animal Science*. 1974;24(3):517-522.
70. Yirmiya R, Rosen H, Donchin O and Ovadia H. Behavioral effects of lipopolysaccharide in rats: involvement of endogenous opioids. *Brain Res*. 1994;648:80-86.