



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

Determinación del número de células plasmáticas abomasales en  
corderos estimulados con antígenos de *Taenia hydatigena* y  
desafiados con infección experimental con *Haemonchus  
contortus*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:  
MÁRQUEZ VEGA VÍCTOR HUGO

ASESOR: DR. FERNANDO ALBA HURTADO.  
COASESOR: DR. MARCO ANTONIO MUÑOZ GUZMÁN.



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.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido llegar a este momento tan importante para mi y mi familia y por enseñarme que los sueños se hacen realidad.

A mi Alma Mater.

A la Máxima casa de Estudios la UNAM por permitirme formar parte de ella,  
Por ser mi segunda casa y encontrar a mí segunda familia.  
Por darme el orgullo de ser universitario.

A la FES Cuautitlan por permitir mi formación profesional,  
Y realizar el sueño y la meta que un día me fije.

## DEDICATORIAS

A mi abuelito

Juan Márquez quien en ningún momento dudo que pudiera llegar a este punto y quien siempre confió en mí para lograrlo, y por ser mi ejemplo a seguir.

A Mis Padres.

El Sr. Víctor Márquez y la Sra. Leticia Vega por darme la vida y tener la fortuna de existir,

Por sus enseñanzas y sus consejos, porque nunca dejaron que me desviara en el camino  
y

Siempre me impulsaron a llegar a esta meta, por haber hecho de mi lo que soy.

Este Logro también es de ustedes.

Gracias papá, Gracias mamá.

A Mis Hermanos

Leonel y Jesús, por el apoyo brindado en este arduo camino para llegar a la meta

Aun cuando el esfuerzo significo la lejanía y perdernos muchas cosas juntos.

Esperando que este estímulo le sirva para sus propios objetivos. Los quiero.

A Claudia

Porque estuviste conmigo en los momentos más difíciles de este camino, por ser mi musa y mi inspiración para seguir adelante, por impulsarme a no desistir en el camino, y simplemente por ser mi todo...

A mis Abuelos  
Mi Abuelita Pilar (†) y mi Abuelito Ángel (†)  
Por ser lo que son.

Al M. en C. Cesar Cuenca  
Por haber sido mi tercer asesor en este trabajo por haberme dado el tiempo y tus conocimientos para conseguir este triunfo, pero sobre todo por tu amistad y la de tu familias gracias “compa”.

A Efrén Galindo.  
Por tus consejos, tu apoyo, y porque algún día también logres llegar a este punto, y por tu gran amistad y la de tu familia gracias.

A mis asesores.  
Al Dr. Fernando Alba Hurtado y el Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán  
Por su tiempo y asesoría para poder llevar a cabo este trabajo.

A el M en C Jorge Alfredo Cuellar  
Por sus enseñanzas, por impulsarme y guiarme a hacer bien las cosas y por su amistad.

A todos y cada uno de mis profesores por haber aportado su granito de arena en mi formación profesional.

A todos mis tíos y primos  
A la familia Martínez de la Vega, a la familia Vega Fuentes, a la familia Vega Rivera, a  
la familia de la Vega Morales, a la familia Herrera Vega, a la familia Nava Márquez, a  
la familia Vega Márquez, a la Familia Márquez Torres.  
Por su apoyo para lograr este sueño.

A los cachorros P8  
Edithe, Sin Amor, Fabián, Padilla, Dulce, Chango, Alberto, Raúl y Raúl, y todos los  
que faltan,  
por su gran amistad.

A mis amigos  
Anabel, Alejandro, Selene, René, Luis, Pepe, por haberme impulsado y demostrado  
cuanto valgo, por haberme enseñado la luz para poder llegar a este punto de mi vida,  
con mucho cariño y admiración.

A Todos Mis Amigos y Compañeros de la Facultad  
Alicia Casillas, Tere Portugués, Edson Naranjo, Jasive Santiago, Viridiana Martínez,  
Carmen, Omar Neri (†), Efrén Galindo, Claudia Hernández, Cesar Cuenca, Néstor  
Cuenca, Guni Delgado, Hilario Haro, Juan Carlos Ángeles, Luis A. Pérez, Rogelio  
Macías, Santiago Fernández, Rómulo, Jesica Gonzales, Víctor Hugo Sánchez,  
Alejandro Buendía.  
Por su gran amistad y apoyo incondicional  
Por todos los momentos difíciles y agradables que hemos pasado juntos  
Por ser mí segunda familia.

A todas las personas que de alguna u otra forma hicieron posible la realización de este  
trabajo.

VICTOR HUGO MARQUEZ

## ÍNDICE

Índice	.....	I
Índice de figuras	.....	II
Índice de imágenes y cuadros	.....	III
Abreviaturas	.....	IV
Resumen	.....	1
Introducción	.....	2
Morfología de <i>Haemonchus contortus</i>	.....	4
Ciclo biológico	.....	5
Epidemiología	.....	8
Patogénia	.....	10
Signos Clínicos	.....	11
Control	.....	12
Respuesta inmunológica (Inmunidad adquirida)	.....	13
Respuesta específica humoral	.....	14
Activación de linfocitos B (LB)	.....	15
Resistencia del Hospedador	.....	18
Interacción entre <i>Haemonchus contortus</i> y otros parásitos	.....	19
<i>Taenia hydatigena</i>	.....	20
<b>Justificación</b>	.....	22
<b>Hipótesis</b>	.....	23
<b>Objetivos</b>	.....	24
<b>Materiales y Métodos</b>	.....	25

Ubicación .....	25
Animales .....	25
Diseño experimental .....	26
Obtención del extracto de metacestodo de <i>Taenia hydatígena</i> .....	28
Inoculación de L <sub>3</sub> de <i>Haemonchus</i> <i>contortus</i> .....	28
Obtención de muestras .....	28
Inmunofluorescencia Determinación de células productoras de IgA, IgG e IgM .....	29
<b>Resultados</b> .....	31
Conteo de células plasmáticas .....	31
Conteo de células plasmáticas en la mucosa abomasal .....	32
Conteos de células plasmáticas en linfonodo abomasal .....	33
Parámetros parasitológicos .....	34
Correlaciones de las variables estudiadas .....	35
<b>Discusión</b> .....	37
<b>Conclusiones</b> .....	40
<b>Bibliografía</b> .....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de <i>Haemonchus contortus</i> .....	4
Figura 2. Huevos de <i>Haemonchus contortus</i> .....	5
Figura 3. Ciclo Biológico .....	7
Figura 4 Diseño experimental .....	27
Figura 5 Foto de célula plasmática en la mucosa abomasal .....	31
Figura 6 Foto de célula plasmática en linfonodo abomasal .....	31
Figura 7. Conteo de células plasmáticas en la mucosa abomasal .....	32
Figura 8. Conteo de células plasmáticas en linfonodo abomasal .....	33

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Nematodos	.....	<b>3</b>
Gastroentericos		
Cuadro 2. Promedio por gramo de	.....	<b>34</b>
heces		
Cuadro 3. Correlaciones	.....	<b>35</b>

## ABREVIATURAS

<b>Ag</b>	Antígeno
<b>ExmTh</b>	Extracto de metacestodo de <i>Taenia hydatigena</i>
<b>FA</b>	Fases adultas
<b><i>H. contortus</i></b>	<i>Haemonchus contortus</i>
<b>hgh</b>	huevos por gramo de heces
<b>i.m</b>	Intramuscular
<b>i.p</b>	Intraperitoneal
<b>LNA</b>	Linfonodo abomasal
<b>RFA</b>	Región fúndica abomasal
<b>RPA</b>	Región pilórica abomasal
<b>L<sub>3</sub></b>	Larva de tercer estadio
<b>L<sub>4</sub></b>	Larva de cuatro estadio
<b>VGE</b>	Verminosis Gastroentericas
<b>NGE</b>	Nematodo Gastroenterico
<b>LB</b>	Linfocitos B
<b>LT</b>	Linfocitos T
<b>FAMACHA</b>	Fransua Malan Charth.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de un extracto del metacestodo de *Taenia hydatigena* (ExMTh) sobre el número de células plasmáticas productoras de IgM, IgG e IgA en el abomaso de corderos infectados experimentalmente con *Haemonchus contortus* (su resistencia a la hemoncosis). Se utilizaron corderos machos de la raza Columbia divididos en cuatro grupos: Los corderos de los grupo 1 (n=6) y grupo 2 (n=6) se infectaron con 5000 larvas 3 de *H. contortus* el día 0. Los corderos de los grupos 3 (n=4) y 2 (n=6) recibieron parenteralmente ExMTh los días -10 -6 y -2 del experimento. Cinco corderos se utilizaron como testigos en el grupo 4. Se utilizó una técnica de Mc Master para determinar semanalmente el número de huevos por gramo de heces (hgh). Al día 57, los corderos fueron sacrificados, se tomaron muestras en congelación de linfonodo (LNA), y de mucosa abomasal (MA) para cortes y se evaluaron por la técnica de inmunofluorescencia, las células plasmáticas productoras de IgM+, IgG+ e IgA+, además se contaron el número de fases adultas (FA) en el abomaso. El análisis de ANOVA mostró un mayor número ( $p < 0.001$ ) de células plasmáticas productoras de IgA+ que de IgG+ e IgM+ en la MA. No se encontraron diferencias significativas en el número de células plasmáticas de ningún isotipo entre los grupos experimentales y el grupo testigo. Los resultados indican que la menor eliminación de huevos y carga parasitaria observada en el grupo 2 no está relacionada a la presencia de células plasmáticas de los isotipos estudiados en el abomaso.

## **INTRODUCCIÓN:**

Es de suma importancia para el desarrollo económico de la ganadería, el conocimiento de las enfermedades parasitarias, pues éstas, se encuentran entre las causas más importantes y frecuentes que ocasionan ineficiencia biológica y económica en los sistemas pecuarios del país (Cuellar, 2003).

Las verminosis gastroentéricas (VGE) son uno de los principales problemas sanitarios de los pequeños rumiantes, repercute en la producción y ocasiona pérdidas económicas relevantes en todo el mundo (Vazquez, 2000). El mayor impacto económico se observa en los sistemas de producción en pastoreo, especialmente en los países tropicales (George, 1993) y de climas cálidos, en los que existen abundantes lluvias durante el verano (Radostits y col., 2002). Esta enfermedad, es producida por nematodos de varios géneros que interaccionan en el tracto digestivo de los rumiantes y trae como consecuencia importantes trastornos metabólicos (Cuéllar, 1986).

En México la VGE es uno de los factores que causan mayor mortalidad en ovinos, además reduce la producción y rentabilidad de las unidades de producción ovina (Morteo y col., 2004). La VGE afecta la nutrición y desarrollo normal del individuo, además de favorecer enfermedades secundarias y en consecuencia, cuantiosas pérdidas a la producción (Cuéllar 2003). La enfermedad se caracteriza por un síndrome de mala absorción y anemia, se presenta con mayor intensidad en animales jóvenes. La transmisión se realiza por la ingestión de pasturas contaminadas con larvas del tercer estadio del desarrollo (L3). La enfermedad tiene un curso agudo, subagudo y generalmente crónico o subclínico, y posee una gran importancia económica debido a que disminuye la producción, y ocasionalmente la muerte (Soulsby, 1998; Quiroz, 2003).

Los parásitos involucrados en la VGE tienen afinidad por ciertas partes del tracto digestivo, así hay especies que se localizan en abomaso, en el intestino delgado y otras en ciego y colon (cuadro 1).

Orden	Familia	Género y Especie	Hospedadores	Localización
Strongylida	Trichostrongylidae	<b>Haemonchus contortus</b>	Ovinos, caprinos	Abomaso
		<i>Mecistocirrus digitalis</i>	Rumiantes	Abomaso
		<i>Teladorsagia sp.</i>	Ovinos, caprinos	Abomaso
		<i>Marshallagia marshalli</i>	Ovinos, caprinos	Abomaso
		<i>Trichostrongylus axei</i>	Rumiantes, cerdos equinos	Abomaso
Rhabdatida	Strongyloidea	<b>Strongyloides papillosus</b>	Rumiantes, otros	Intestino Delgado
Strongylida	Trichostrongyloidea	<i>Trichostongylus sp.</i>	Rumiantes	Intestino Delgado
		<i>Nematodirus sp.</i>	Ovinos	Intestino Delgado
		<i>Cooperia cuticei</i>	Ovinos, caprinos	Intestino Delgado
Strongylida	Ancylostomatoidea	<i>Bunostomum trigoncephalum</i>	Ovinos	Intestino Delgado
		<i>Gaigeria pachyscelis</i>	Ovinos, caprinos	Intestino Delgado
Strongylida	Trichosnemastidae	<i>Oesophagostomum sp.</i>	Ovinos, caprinos	Colon
		<i>Chabertia ovina</i>	Rumiantes	Colon
Ascaridia	Oxyuridae	<i>Skrjabinema ovis</i>	Ovinos, caprinos	Ciego
Enoplida	Trichuridae	<i>Trichuris ovis</i>	Rumiantes	Ciego

Cuadro 1.-Nematodos gastroentéricos de los ovinos. (Cuéllar 2003.)

Los nematodos gastroentéricos (NGE) más frecuentes en los ovinos de México, son: *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus sp.*, *Cooperia sp.*, *Strongyloides papillosus*, *Chabertia ovina*, *Nematodirus sp.*, *Oesophagostomum sp.*, y *Trichuris ovis*.

Por su alta incidencia en todo el mundo y por los efectos que produce en el hospedador, *Haemonchus contortus* es considerado como el nematodo más importante de los ovinos (Quiroz, 2003).

#### **Clasificación taxonómica de *Haemonchus contortus*.**

Reino: Animalia.

Phylum: Nematelminthes.

Clase: Nematoda.

Orden: Strongyloidea.

Superfamilia: Trichostrongyloidea.

Familia: Trichostrongylidae.

Género: *Haemonchus*.

Especie: *contortus*.

## Sinonimias

*Haemonchus* también es conocido como el gran gusano del estomago, gusano del cuajar de los rumiantes (Soulsby, 1987) y gusano de palo de barbería (Lapage, 1981).

## Morfología

Los adultos de *H. contortus* se encuentran en el abomaso. Los machos miden de 10 a 20 mm y tienen un color rojizo uniforme, mientras que en las hembras miden de 18 a 30 mm con los ovarios blancos enrollados en espiral alrededor del intestino rojo que le dan un aspecto rallado. El extremo anterior de ambos es muy delgado, poseen una pequeña cápsula bucal, con un fino diente o lanceta que se origina en el lado dorsal. Tienen papilas cervicales prominentes, en forma de espinas (Alba, 2006).

La bolsa copuladora del macho esta bien desarrollada, tiene dos grandes rayos laterales y uno dorsal pequeño asimétrico. Las papilas prebursales son relativamente cortas y posee un gubernáculo. La vulva en la hembra se encuentra al final en el segundo tercio del cuerpo y está cubierta por una protuberancia, solapa o proceso lingüiforme. Los huevos tienen una forma ovoide son incoloros miden de 70-85 por 41-48  $\mu\text{m}$  (Lapage, 1981; Soulsby, 1987; Quiroz, 2003).

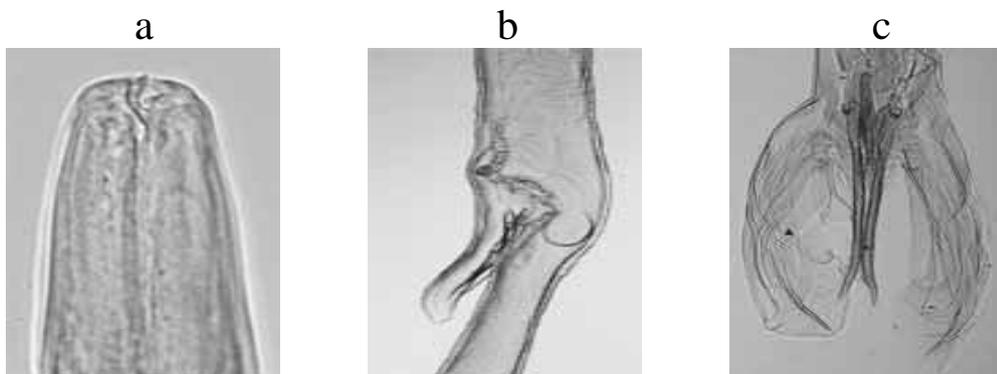


Figura 1.- a) extremo anterior de *Haemonchus contortus*, b) membrana vulvar de *Haemonchus contortus*, c) bolsa copulatriz de *Haemonchus contortus* (Thekebun, 2008).



Figura 2.- Huevo de *Haemonchus contortus* ( Thekebun, 2008).

### **Ciclo biológico**

El ciclo biológico es directo (fig. 3). Los adultos de *H. contortus* se localizan en el abomaso del hospedador. Las hembras pueden producir de 5,000 a 10,000 huevos al día, los cuales son eliminados en la materia fecal, después, si las condiciones ambientales son adecuadas, se desarrolla la larva 1 (L<sub>1</sub>) que eclosiona en la materia fecal en 1 ó 2 días (Quiroz, 2003). Esta se alimenta de bacterias del medio donde se encuentra. Al completar su crecimiento muda de epidermis (ecdysis) y se transforma en larva 2 (L<sub>2</sub>), que también se alimenta de bacterias y crece hasta que madura, muda su epidermis, pero esta no se desecha y permanece como una envoltura alrededor de la larva 3 (L<sub>3</sub>) que la separa del ambiente, por lo tanto no puede alimentarse. La L<sub>3</sub> se mantiene de los gránulos de material alimenticio que han sido almacenados dentro de las células que recubren su intestino (Lapage, 1981).

La L<sub>3</sub> es muy activa y capaz de desplazarse verticalmente sobre las superficies húmedas de los vegetales (presenta: hidrotropismo positivo, fototropismo negativo, termotropismo positivo, geotropismo negativo), buscando de esta manera la parte más alta y húmeda del pasto (Quiroz, 2003). La migración vertical les permite subir a las gotas de rocío que se encuentran en las puntas de los pastos en las mañanas o en los días nublados (Soulsby, 1987).

La infección de los animales se da por la ingestión de las L<sub>3</sub> con las pasturas. En el rumen aproximadamente 30 minutos después de la ingestión, la L<sub>3</sub> pierde la cutícula que conservaba de la anterior muda, esto se da por diversos estímulos del hospedador (bicarbonato, CO<sub>2</sub> gaseoso, etc.) que activan a la L<sub>3</sub> para liberar un fluido de muda que actúa sobre la cutícula provocando su ruptura, con esto la larva puede salir mediante movimientos propios (Lapage, 1981; Maena y Rojo 1999).

Las larvas ya liberadas en abomaso, penetran la mucosa por las fosas de las glándulas gástricas (Lapage, 1981., Soulsby, 1987), *H. contortus* tiene afinidad por la mucosa de la región fúndica (Maena y Rojo, 1999). Dentro de la glándula, la L<sub>3</sub> se alimenta de sangre, crece y muda a larva 4 (L<sub>4</sub>), ésta también crece e ingiere sangre, sale de la mucosa y muda a larva 5 (L<sub>5</sub>) o preadulto (Maena y Rojo, 1999). Las L<sub>5</sub> se desarrollan hasta adulto, macho o hembra (Lapage, 1981) después de la cópula las hembras comienzan a producir huevos cerrando el ciclo (Maena y Rojo, 1999).

En algunas circunstancias, el desarrollo larvario se detiene en el estadio L<sub>4</sub> dentro del hospedador durante algunos meses, condición denominada hipobiosis. La naturaleza del estímulo que induce hipobiosis se desconoce, aunque algunos trabajos mencionan que se debe a factores genéticos, inmunológicos o ambientales, el fenómeno coincide con condiciones ambientales adversas, meses fríos o épocas secas y parece ser que la capacidad de inhibición es una característica heredable y se considera una adaptación del parásito a la resistencia del hospedador, a factores ambientales adversos o ambos a la vez (Quiroz, 2003).

La reanudación del desarrollo de las larvas hipobióticas se produce cuando las condiciones ambientales son adecuadas para la supervivencia de las fases libres y está asociada probablemente con estímulos estacionales (Lapage, 1981). Desde el punto de vista patológico es muy importante, pues la reactivación sincrónica de las larvas hipobióticas puede dar lugar a cuadros agudos graves. También es importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que al coincidir en el tiempo la madurez sexual de los adultos procedentes de larvas hipobióticas, se eliminan cantidades elevadas de huevos que contribuyen en forma significativa a la contaminación ambiental, en una época del año favorable para el desarrollo de las L<sub>3</sub>, siendo muy alto el riesgo de infección para

los animales jóvenes. En ausencia de hipobiosis el periodo de prepatencia es de 15 a 20 días, (Soulsby, 1987; Maena y Rojo, 1999).

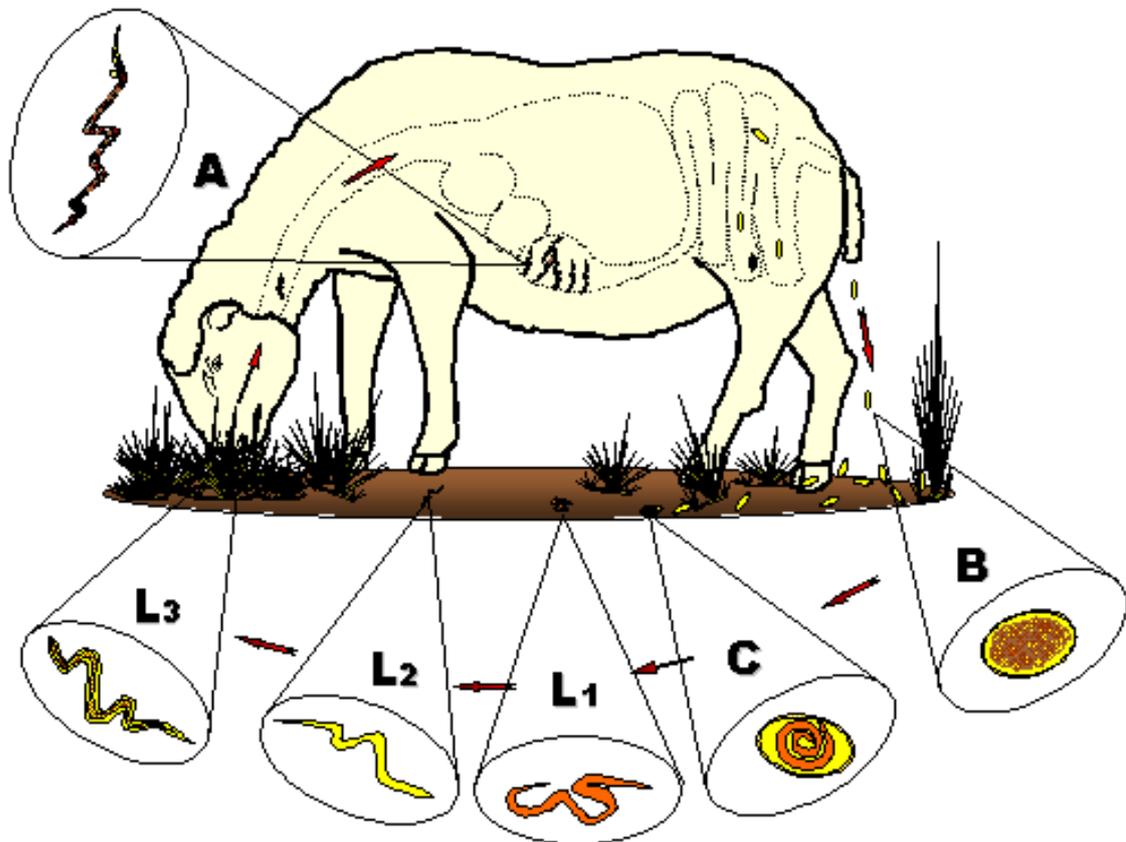


Figura 3. Ciclo biológico de *Haemonchus contortus*.

A) Adultos en la mucosa abomasal. B) Huevo eliminado en heces. C) Huevo larvado. L<sub>1</sub>) Larva 1 libre en suelo. L<sub>2</sub>) Larva 2. L<sub>3</sub>) Larva 3 (fase infectante). (Tomado de Cuenca, 2008).

## **Epidemiología:**

En México esta parasitosis muy común, puede verse agravada por el hecho de que la mayoría de los rumiantes se encuentran en pastizales comunales, donde pastorean juntos bovinos, ovinos y caprinos, en terrenos sobrepastoreados y altamente contaminados (Cuéllar, 1992).

La L1 y L2 son susceptibles a la desecación, las larvas dependen de las condiciones climáticas y micrometeorológicas, tipo de suelo, terreno, naturaleza y cantidad de vegetación mientras que la L3 soportan más. La L<sub>3</sub> migra mejor en clima húmedo y cálido, en condiciones adecuadas el desarrollo de la L3 se alcanza de 4 a 7 días (Norman, 1978, Lapage, 1976).

La epidemiología de la hemocosis está condicionada principalmente por la elevada fecundidad de las hembras y por la velocidad a la que las larvas infectantes pueden desarrollarse en temperaturas altas, por lo que la hemocosis es una enfermedad del ganado ovino en climas cálidos y de humedad, por lo tanto, cuando las condiciones son favorables, se pueden acumular una gran cantidad de larvas infectantes sobre los pastos en muy poco tiempo. Sin embargo las posibilidades de transmisión se encuentran limitadas por la susceptibilidad de las larvas a la deshidratación (Urguhart y col., 2001, Radostits y col., 2002).

La presencia de nematodos gastroentéricos ocurre tanto en animales jóvenes como en adultos, sin embargo, la presentación clínica de la enfermedad casi es exclusiva de corderos. Además, existen otros factores propios del hospedador que condicionan la severidad de la parasitosis, entre los que están: la especie, raza, sexo, estado nutricional y estado fisiológico (Cuéllar, 1992).

Se ha demostrado que los animales nativos o genéricamente llamados “criollos”, resisten más las infecciones parasitarias en relación a los animales de razas puras o exóticas, esta situación se da a través de mecanismos de selección natural en los animales nativos, resultando una progenie con las mismas características.

Los ovinos de razas puras son por lo regular criados y mantenidos bajo condiciones estabuladas en las que difícilmente conviven con los parásitos y al entrar en contacto con ellos muestran una gran susceptibilidad (Cuéllar, 1992).

El estado nutricional del hospedador puede determinar el establecimiento y desarrollo de los parásitos además del curso de la infección (Cordero, 2002). Los animales subnutridos son mas susceptibles a infecciones masivas, en relación con aquellos que mantienen optimas condiciones nutricionales, cuya base esta en la cantidad y calidad de alimento consumido (Cuéllar, 1992; Radostits y col., 2002).

Existe un aumento considerable en el numero de huevos eliminados por las ovejas entre las cuatro y ocho semanas después del parto, a este fenómeno se le ha denominado alza posparto o alza lactacional. En hembras vírgenes se presenta el fenómeno de alza de primavera y en los machos es de menor intensidad (Soulsby, 1987; Quiroz, 2003).

**Patogenia:**

La patogenia está relacionada con la actividad expoliadora hematófaga de las L<sub>4</sub> así como la de los adultos (Dunn, 1983). Al ingerir grandes cantidades de sangre del hospedador se producen pérdidas de los componentes sanguíneos, incluyendo eritrocitos y proteínas plasmáticas, lo que ocasiona anemia e hipoproteinemia. La pérdida diaria es de alrededor de 0.05 ml de sangre completa por gusano (Soulsby, 1987).

Las larvas ejercen acción mecánica y traumática cuando penetran a las glándulas gástricas en la pared del abomaso (Quiroz, 2003) y la lesión causada a la mucosa por fijación de los adultos produce abomasitis (Lapage, 1976; Blood y col., 1986). Las larvas que penetran en la mucosa producen lesiones, consecutivas a la penetración y crecimiento de las larvas en el interior de las glándulas gástricas, lo que origina hiperplasia, dilatación y protrusión sobre la superficie de la mucosa. Durante este periodo las larvas ejercen también una acción antigénica, debida a la muda y a los productos de secreción y excreción que en algunos casos, necrosa el tejido circunvecino además de provocar una respuesta inmune local y humoral (Quiroz, 2003).

Los adultos generan también una acción tóxica por medio de sustancias anticoagulantes que infiltran en los tejidos alrededor de la pequeña úlcera que ocasionan para succionar sangre; al cambiar de sitio de alimentación, la úlcera continúa sangrando, lo que favorece la pérdida de sangre (Quiroz, 2003).

La parasitosis en abomaso da lugar a la disminución de la secreción de HCl que facilita el aumento del pH gástrico, este incremento en el pH repercute negativamente en la digestión proteica ya que el pepsinógeno no se convierte en pepsina y se pierde el efecto bacteriostático del pH bajo. También aumenta la síntesis de gastrina, que va aunado a un aumento de la contractilidad del abomaso y del peristaltismo intestinal (Meana y Rojo, 1999).

## **Signos clínicos:**

Los signos clínicos pueden agruparse en tres cuadros: Hiperagudo, agudo y crónico. Hemoncosis hiperaguda: Es poco común, pero puede darse en animales susceptibles expuestos a una infección masiva repentina. El enorme número de parásitos provoca el rápido desarrollo de anemia, heces de color oscuro y muerte súbita, debida a la pérdida de sangre. Ocurre gastritis hemorrágica intensa. Se puede producir la muerte en el periodo prepatente de tales infecciones (Dunn, 1983; Soulsby, 1987).

Hemoncosis aguda: Se observa principalmente en animales jóvenes susceptibles con infecciones intensas (Soulsby, 1987). El cuadro clínico incluye baja considerable de peso y/o retardo en el crecimiento. Hay diarrea intermitente de color café oscuro, emaciación, mucosas pálidas y presencia de edema submandibular. Los animales están débiles, dejan de comer y se retrasan al momento de pastorear, puede haber caída de lana o esta es arrancada a mordidas por otros animales afectados. En muchos casos el animal muere como consecuencia de trastornos digestivos y metabólicos severos que provocan los parásitos. Los animales recuperados suelen quedar subdesarrollados (Dunn, 1983; Blood y col., 1986).

Hemoncosis crónica o subclínica: Se presenta en la mayoría de los casos con ausencia de signos observables. Las hembras se vuelven improproductivas y muy delgadas, con pérdida progresiva de peso y caída de lana en los animales adultos y falta de crecimiento en los corderos, en casos intensos hay letargo, debilidad y anorexia (Dunn, 1983, Martin y Artken, 2000).

## **Control de la hemoncosis ovina**

En la actualidad el control de la hemoncosis ovina en México, se basa principalmente en la administración de antihelmínticos (Torres y col., 2003). La resistencia a los antihelmínticos ha constituido un serio problema en diversos países. En México, las primeras cepas resistentes a albendazol se encontraron en Puebla (Campos y col., 1990). Posteriormente se encontró resistencia a fenbendazol, oxfendazol y fabantel en Yucatán (Campos y col., 1992). Aunado al problema de resistencia a los antihelmínticos, existen otros problemas que dificultan el manejo adecuado de los programas de desparasitación de los rebaños, como por ejemplo la aparición de productos genéricos de mala calidad. (Waller y col., 1996). Por otro lado, la exigencia del mercado internacional en reducir los residuos de medicamentos en productos para el consumo humano, ha propiciado que se empleen nuevas técnicas de control antiparasitario que no dependan de sustancias químicas.

Algunas de las nuevas alternativas de control de la hemoncosis que en la actualidad se emplean, van encaminadas en cinco líneas: 1) el desarrollo de vacunas, 2) el manejo de praderas o pastizales y la suplementación alimenticia, 3) el control biológico del parásito mediante depredadores naturales, 4) la desparasitación selectiva utilizando el método FAMACHA® y 5) la selección de animales resistentes y/o resilientes a la infección por NGE.

## **Respuesta inmunológica contra *Haemonchus contortus***

No son completamente claros los mecanismos inmunológicos a través de los cuales los animales tienen o adquieren resiliencia a la infección de *H. contortus*, se han realizado varios estudios y aun se tienen dudas al respecto, no obstante, se ha observado que la respuesta es diferente dependiendo de la edad, raza, estado nutricional así como del estadio de desarrollo parasitario y las exposiciones previas (Muñoz, 2007). Una característica de la respuesta inmune es la especificidad inmunológica. El tipo de respuesta está condicionada por las variaciones antigénicas que presentan los nematodos.

Debido a que *H. contortus* tiene varios estadios durante su desarrollo en el hospedador, es difícil que este sea capaz de montar una respuesta eficiente, pues se ha demostrado que cada fase larvaria que se encuentra dentro del hospedador tiene antígenos de superficie diferentes. También existen moléculas antigénicas que se desprenden del parásito y se conocen como antígenos de secreción y excreción. Esto indica que el sistema inmune es estimulado por distintas moléculas antigénicas en poco tiempo, que además son distintas a los antígenos que se encuentran en la superficie de las fases adultas (Meeusen y col. 2005). Así, se observa que la respuesta sobre las larvas, está relacionada con cantidades elevadas de inmunoglobulinas (IgA e IgE) histamina y leucotrienos en el moco (Montaraz, 1997).

Los mecanismos por los cuales las inmunoglobulinas IgG e IgA contribuyen en la inmunidad contra los nematodos gastrointestinales no son totalmente claros. Pero se sugiere que los anticuerpos pueden tener un efecto directo sobre los parásitos. Son varios los estudios donde se relacionan las inmunoglobulinas de tipo IgA e IgG con la resistencia a *H. contortus*, pero en general se ha observado un incremento en los anticuerpos séricos contra antígenos larvarios y de adultos después de una infección (Gasbarre, 1997).

## **Respuesta específica humoral contra *H. contortus***

Las inmunoglobulinas más ampliamente estudiadas han sido las IgA, puesto que se consideran parte fundamental de la respuesta inmunitaria de las mucosas. También han sido estudiadas la IgG, e IgM ya que en el caso de los rumiantes aparecen en cantidades muy elevadas en las mucosas. Se observó que las ovejas inmunizadas parenteralmente con antígeno larvario del helminto mostraron notables incrementos de IgG (sérica y de abomaso) y la respuesta gástrica IgA, fue escasa (Smith, 1977).

Las larvas infectantes de *H. contortus* son las responsables del estímulo antigénico, este estímulo provoca la elevación de los niveles de anticuerpos en la mucosa gástrica, esta elevación es dependiente de la dosis (Byszewska-Spocinska y Stankiewicz, 1985); para el mantenimiento de los niveles elevados de IgA e IgG en abomaso es necesaria la presencia del estímulo antigénico constante, hecho también observado en las infecciones ovinas de *T. circumcincta* (Smith, 1977).

En algunos trabajos se ha buscado la respuesta por anticuerpos a nivel local en el sitio de la infección por *H. contortus*. Bowles y col. (1995), desarrollaron una metodología que utiliza cultivos de células productoras de anticuerpos como sondas (antibodies secreting cells, ASC probes) para la detección de antígeno específicos reconocidos localmente. Estos autores realizaron cultivos de linfocitos a partir de linfonodos abomasales y a partir de estos cultivos, obtuvieron del sobrenadante anticuerpos, con los que posteriormente determinaron antígenos de la superficie de la L3 de *H. contortus*.

Gill y col. (1993a) han sugerido un papel importante para las IgA e IgG<sub>1</sub> específicas, tanto séricas como locales, en la inmunidad de ovinos genéticamente resistentes a la hemoncosis. Posteriormente mediante estudios inmunocitoquímicos se observó que el incremento de células de abomaso positivas para IgA e IgG<sub>1</sub> parasito-específicas era significativamente mayor en estos corderos.

Utilizando conjugados fluorescentes anti-IgA, IgG e IgM lograron marcar las células que contienen este tipo de inmunoglobulinas en el citoplasma (immunoglobulin-containing cells, IgCC) en el abomaso de animales infectados con *H. contortus*,

observaron el incremento en el número de IgCC en la submucosa del abomaso en los animales infectados teniendo un pico máximo a los siete días postinfección, las IgACC fueron las más frecuentemente observadas (68-64%) seguidas por las IgGCC y las IgMCC. Las IgG2CC prácticamente no se encontraron. De la misma forma se ha estudiado a nivel local a las células plasmáticas, utilizando algunos marcadores de linfocitos B activados en el CD45R (Balic y col., 2000; Balic y col., 2002; Muñoz, 2007).

Las respuestas inmunitarias eficaces tienen una serie de características según su fase de desarrollo. En la inmunidad local los tejidos linfoides de las mucosas se han adaptado de forma característica para producir cantidades elevadas de IgA en el caso de las VGE la respuesta está relacionada con la presencia de cantidades elevadas de inmunoglobulinas IgA e IgE. (Abbas y Lichman, 2004; Montaraz, 1997).

#### **Activación de linfocitos B (LB) a células plasmáticas.**

Es propiedad universal de los LB la presencia de inmunoglobulinas en su membrana. Cuando el LB no ha sido activado la inmunoglobulina es isotipo IgD, la reacción antígeno-anticuerpo proporciona al LB una de las señales requeridas para iniciar un proceso de replicación destinado a la generación de una colonia celular o clona en la que se distinguirán dos tipos de células: células plasmáticas, responsables de la síntesis y secreción de inmunoglobulinas de los isotipos IgM, IgG, IgA ó IgE (con la misma especificidad que las presentes en la membrana del LB progenitor) y las células de memoria responsable de iniciar una respuesta secundaria posterior contra el antígeno en cuestión. No se conoce cuáles son los estímulos que determinan el que una estirpe de LB activado evolucione a célula efectora o célula de memoria (Montaraz, 1997; Abbas, 2004).

Las células plasmáticas se encuentran solo en órganos linfoides y en los lugares de respuesta inmunitaria, y normalmente no circulan por la sangre o la linfa. Tienen una morfología característica con núcleo excéntrico, citoplasma abundante que enriquece un retículo endoplasmático rugoso (RER) denso, que es el lugar donde se sintetizan los anticuerpos (y otras proteínas secretadas y de membrana). Existe un aparato de Golgi grande, que se tiñe mal con pigmentos histológicos habituales y que es responsable del

halo peri nuclear; Los anticuerpos adquieren su conformación y son agrupados para su secreción en este organelo (Abbas, 2004). Estas inmunoglobulinas pueden ser identificadas dentro de la célula plasmática mediante inmunofluorescencia, en la que se emplea un anticuerpo conjugado contra la gammaglobulina del isotipo a estudiar combinado con un colorante fluorescente. Cuando una muestra de linfocitos se incuba con este conjugado y se observa al microscopio con luz ultravioleta, las células plasmáticas se verán rodeadas de un halo brillante usualmente de un color rojo-anaranjado producido por la tetrametil-rodamina (Abbas, 2004).

Los Linfocitos B. (LB) después de la estimulación antigénica se multiplican y transforman en células plasmáticas (Montaraz, 1997). Las células plasmáticas son células en la fase final de diferenciación con una capacidad nula o escasa de división mitótica y son en esencia, sintetizadoras de anticuerpos. Se calcula que más de la mitad del RNA mensajero (ARNm) de las células plasmáticas codifica para anticuerpos (Abbas y Lichman, 2004).

La función fisiológica de los anticuerpos es neutralizar y eliminar al antígeno que indujo su información (Abbas y Lichman, 2004). La activación de LB es dependiente de dos señales, la primera la proporciona la interacción del antígeno con la inmunoglobulina de la membrana del LB, la otra la proporciona una serie de citocinas secretadas por los LT cooperadores o  $CD4^+$  (Montaraz, 1997). Las células B son extremadamente eficaces en la presentación de antígeno que reconocen, porque las Ig de membrana actúan como receptores de alta afinidad que capacitan a las células al unirse, intentar y presentar concentraciones muy bajas de antígenos.

Se cree que las interacciones con las células presentes en los centros germinales, como los linfocitos T cooperadores o las células dendríticas foliculares, pueden estimular las mutaciones de las Ig. El resultado de la hipermutación somática es que las mutaciones de los genes variables se acumulan de forma secuencial en la progenie de los clones de células B que proliferan. A medida que estos procesos ocurren, los anticuerpos que se han secretado a la circulación se unen al antígeno residual y pueden activar al complemento. Estos complejos inmunitarios se concentran en las superficies de las células dendríticas foliculares mediante la unión a los receptores de Fc de los anticuerpos y la fracción C3b del complemento (Abbas y Lichman, 2004).

## **Resistencia del hospedador**

El término “resistencia a nematodos” ha sido definido como la habilidad de un huésped para iniciar y mantener una respuesta que evite o reduzca el establecimiento de los parásitos o elimine la carga parasitaria. (Albers y Gray, 1987). Los tipos de resistencia frente a las enfermedades parasitarias se clasifican en dos categorías. La primera, también llamada resistencia innata, esta asociada a la especie, la edad, y la raza. La segunda categoría, la inmunidad adquirida, depende de los estímulos antigénicos y de la posterior respuesta humoral y celular (Urguhart, 2001), diferenciándose entre la resistencia natural, de origen genético y la resistencia adquirida con la edad también llamada inmunidad (Cordero, 1999). La participación de los mecanismos inmunológicos no es totalmente conocida, pero se ha establecido que es una característica heredable típica de algunas razas ovinas (Sréter y col., 1994). La resistencia puede depender directamente de la respuesta celular de linfocitos T (Cordero y col., 2000). Otros factores asociados a la resistencia son el estado nutricional, edad, sexo, raza, tipo de hemoglobina, respuesta eosinofílica, presencia de ciertos antígenos leucocitarios o de algunos genes (Hohenhaus y Outteridge, 1995). La resistencia puede ser en realidad, la expresión conjunta de diversos mecanismos en un inicio, pero que continúan de manera natural al desarrollo de mecanismos específicos de defensa, los cuales en su conjunto, impiden el establecimiento eficiente del parásito (Muñoz, 2007).

Se ha demostrado que algunas razas ovinas son más resistentes que otras a los NGE, un ejemplo de ello son: la resistencia de las cruzas  $\frac{3}{4}$  de la raza Red Maasai en comparación de las cruzas de la raza Dorper. Algunas razas en las que se ha demostrado resistencia natural son: Blackbelly (Yanswinski y col., 1980), Florida (Amarante y col., 1999), Saint Croix (Burke y Miller, 2004), Katahdin (Burke y Miller, 2004), Red Maasai (Mugambi y col., 1996). La selección de los animales resistentes se realiza con base en la menor carga parasitaria relacionada con el aumento de la eosinofilia principalmente, así como la eliminación de los animales no responden favorablemente (Hooda y col, 1999).

De esta misma forma se han encontrado elementos de la respuesta inmune, como la eosinofilia periférica y los niveles de anticuerpos específicos contra los parásitos, relacionados con la menor susceptibilidad a la hemoncosis, por lo que se ha sugerido que esto puede tener una base inmunológica (Muñoz, 2007).

Gill y col. (1991), encontraron niveles significativamente elevados de anticuerpos en ovejas genéticamente resistentes, en comparación de un grupo aleatorio, los anticuerpos anti-larvas y anti-adultos correlacionaron negativamente con la carga parasitaria. Gómez-Muñoz y col. (1999), encontraron relación entre los niveles de IgG, IgM e IgA séricas, con el estado de resistencia de los ovinos de la raza Castellana infectados con *H. contortus*. Por otra parte Pernthaner y col. (2005), determinaron niveles de IgE contra *Trichostrongylus colubriformis* significativamente más elevados en animales resistentes que en animales susceptibles a la infección. Por otro lado, Gill y col. (1994), reportaron relación entre algunos genotipos ovinos resistentes a *H. contortus* y el número de células productoras de anticuerpos (IgA e IgG) presentes en la mucosa del abomaso de estos animales. La heredabilidad de la respuesta por anticuerpos se ha estimado en rangos de  $h^2 = 0.37$  a  $0.56$ , por lo que concluyen que los niveles de anticuerpos pueden ser utilizados como indicadores genéticos de resistencia a NGE (Hohenhaus y Outteridge, 1995). El grado de resistencia también puede estar relacionado con la edad, el estado fisiológico de los animales o sus exposiciones previas a otros parásitos.

### **Interacción entre *Haemonchus contortus* y otros parásitos**

Se ha encontrado que en corderos con infecciones concomitantes entre *Oestrus ovis* y *H. contortus* hay un aumento de eosinofilos, mastocitos y leucocitos abomasales, observando una menor carga parasitaria por *H. contortus* comparados con corderos no infectados y corderos infectados solamente con *H. contortus*. (Dorchies y col., 1997, Yacob y col., 2005) también se ha reportado la reducción significativa en el tamaño promedio de las hembras de *H. contortus*, así como en el número de huevos dentro del útero de las mismas (Terefe y col., 2005). De la misma forma observaron la reducción de la carga parasitaria de *Trichostrongylus colubriformis* en infecciones mixtas con *O. ovis* (Yacob y col., 2004., Yacob y col., 2006).

## **Generalidades de *Taenia hydatigena***

La fase adulta de este parásito se localiza en el intestino delgado de los perros y las larvas en serosas de hígado, pulmón y omentos de rumiantes cerdos y equinos (Alba, 2007).

Los adultos son cestodos de color blanco lechoso cuyo tamaño varia, los adultos presentan en la parte anterior un escólex con róstelo (armado) y dos hileras de ganchos de diferente tamaño, el cuello es corto y casi la mitad de grueso que el escólex. Los proglotidos maduros de *Taenia hydatigena* son tan anchos como largos, con los testículos distribuidos en toda la zona proglotidea. Los conductos eferentes de cada testículo se unen para formar un conducto deferente común, que continua en un tubo enrollado hasta el poro genital (atrio genital) cubierto por un esfínter muscular. Sobre la porción inferior de los conductos deferentes se encuentra el tubo vaginal. Los proglótidos grávidos son mucho más largos que anchos, y dentro de ellos se puede encontrar el útero ramificado y completamente lleno de huevos (Alba, 2007).

El perro es el hospedador del adulto de *T. hydatigena*, éste elimina proglótidos en las heces que contaminan el suelo, donde los hospedadores intermediarios se infectan al ingerir huevos que han contaminado su alimento. En el tracto digestivo se libera la oncosfera por acción enzimática, pasa la pared del intestino y llega al torrente sanguíneo por vía porta. Algunas veces pasa a la vena cava posterior en donde es transportado a varias partes del cuerpo pero por lo general emigra por el hígado y llega a la superficie, luego pasa a la cavidad abdominal en donde se desarrolla en 3 a 4 semanas. Clínicamente no hay signos evidentes de enfermedad, aunque infecciones masivas podrían originar la muerte en 2-3 meses, que estaría debida a la hepatitis traumática que originan las oncosferas errantes. En los casos avanzados se observan los típicos cisticercos, del tamaño de guisantes al de nueces, depositados en las membranas serosas, sobre todo a nivel del epiplón (Alba, 2007).

Los cisticercos son fases larvarias de *T. hydatigena*, y presentan una morfología común, anteriormente recibían nombre en latín, pero ahora solo se usan como sinónimos y lo correcto es llamarlos metacestodos de *Taenia* de la especie correspondiente, en este caso se le llama metacestodo de *Taenia hydatigena*. Los cisticercos tienen forma y estructura vesicular y son de color blanco translucido, presentan dos membranas en su superficie y la más externa es producida por el hospedador, como resultado de la continua reacción inflamatoria hacia el parásito, el grosor de esta capa depende del tiempo que tenga el cisticerco instalado en el organismo. La capa interna en sí forma parte del cisticerco y limita al líquido que contiene, en uno de sus extremos esta membrana tiene un solo escólex invaginado, con las mismas características que el escólex del cestodo adulto. El interior de los cisticercos es ocupado por la laguna primitiva, constituida por un líquido claro y rico en nutrientes, obtenidos por difusión facilitada del medio invadido dentro del hospedador, la laguna primitiva ocupa la mayor parte del volumen total del cisticerco (Quiroz, 2003).

## JUSTIFICACIÓN

La hemoncosis ovina es una enfermedad de gran importancia, principalmente en aquellos lugares donde se practica el pastoreo, ocasiona ineficiencia económica en los sistemas pecuarios de México y el resto del mundo, disminuye la producción animal y produce pérdida en las utilidades del productor (Urguhart, 2001).

En la respuesta inmune están involucrados tanto componentes específicos (respuesta celular y humoral), como inespecíficos (respuesta inflamatoria). La inmunidad frente a los nematodos gastroentéricos se ha sugerido que es dependiente de la respuesta celular de linfocitos T (Soulsby, 1987). Los corderos resistentes a la hemoncosis tienen niveles más altos de eosinófilos sanguíneos y anticuerpos séricos que los corderos susceptibles, la eosinofilia es uno de los factores más frecuentemente asociados con la helmintiasis y ha sido relacionada con protección contra *H. contortus* (Lapage, 1981).

En trabajos previos se ha demostrado la inoculación de un extracto del metacetodo de *Taenia hydatigena* (ExMTh) produce eosinofilia e induce protección (Cuenca, 2008), sin embargo, no se ha estudiado como la inoculación de este extracto modifica las poblaciones de células productoras de anticuerpos a nivel abomasal.

Por lo anterior en el presente trabajo, se evaluó el efecto de la inoculación de ExMTh sobre las subpoblaciones de células productoras de anticuerpos en linfonodo abomasal y en la mucosa abomasal de ovinos y su relación con la resistencia a la hemoncosis ovina.

## **HIPÓTESIS**

La estimulación previa de corderos con antígenos de metacestodo de *Taenia hydatigena* a la infección con *Haemonchus contortus* produce cambios en el número de células plasmáticas a nivel abomasal, lo cual afecta el establecimiento del parásito y en consecuencia de la resistencia.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Determinar el número de células plasmáticas en el abomaso de corderos infectados experimentalmente con *Haemonchus contortus* que fueron previamente estimulados con antígenos de metacestodo *Taenia hydatigena* y su efecto sobre la resistencia a la hemoncosis.

### Objetivos particulares

1. Cuantificar y comparar las células productoras de IgM, IgG e IgA, en la mucosa abomasal, así como en el LNA en corderos estimulados con antígenos de *Taenia hydatigena*, corderos infectados únicamente con *Haemonchus contortus* y corderos estimulados con antígeno de *T. hydatigena* e infectados con *H. contortus*.
2. Comparar el número de huevos por gramo de heces (hgh) entre los grupos infectados con *H. contortus*.
3. Correlacionar el número de células productoras de IgM, IgG, e IgA con la eliminación de hgh entre los grupos infectados con *H. contortus*.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### Localización:

El trabajo se realizó en el laboratorio 1 (Inmunología y Biología Molecular de Parásitos) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en Salud Animal (UIMSA). Los animales fueron mantenidos en las instalaciones de la unidad de posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4, perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México. km. 2.5 Carretera México Teoloyucán Cuautitlán Izcalli Estado de México.

### Animales:

Se utilizaron 25 corderos Columbia, machos, menores de ocho meses de edad procedentes de una explotación ovina dedicada a la producción de animales para pie de cría, lo cual garantizó su homogeneidad y pureza racial. Se les realizó una valoración clínica para confirmar su estado de salud y como medida preventiva fueron desparasitados con albendazol a dosis de 5 mg/kg. pv. Antes de iniciar el experimento se verificó la ausencia de huevos de nematodos gastroentéricos en la materia fecal. Una vez en las instalaciones, tuvieron un periodo de dos semanas de adaptación a las nuevas condiciones de manejo. Todos los corderos se mantuvieron en condiciones de confinamiento total en corraletas con capacidad para seis corderos. La alimentación consistió en alimento balanceado comercial para ovinos con 15.5 % de proteína cruda, así como forraje seco molido, en una proporción de 80% alimento y 20% forraje. El alimento se ofreció diariamente en cantidad del 4% del peso vivo de cada grupo de corderos. El agua se ofreció *ad libitum* con bebederos automáticos de pivote.

## Diseño experimental

Para los objetivos del trabajo se tomo en cuenta el siguiente cronograma de actividades;

DIA	-10	-6	-2	0	20	28	36	43	50	57
ACTIVIDAD	Aplicación (V.I.P.) ExmTh	Aplicación (V.I.P.) ExmTh	Aplicación (V.I.P.) ExmTh	Recibieron 5,000 L3H. <i>contortus</i> .	Muestra de Heces y Sacrificio					

Los corderos fueron divididos en cuatro grupos, como lo muestra la figura 4. Los corderos del grupo 1 (n = 6) recibieron únicamente 5,000 L3 de *H. contortus* mediante sondeo buco-esofágico el día 0 del experimento.

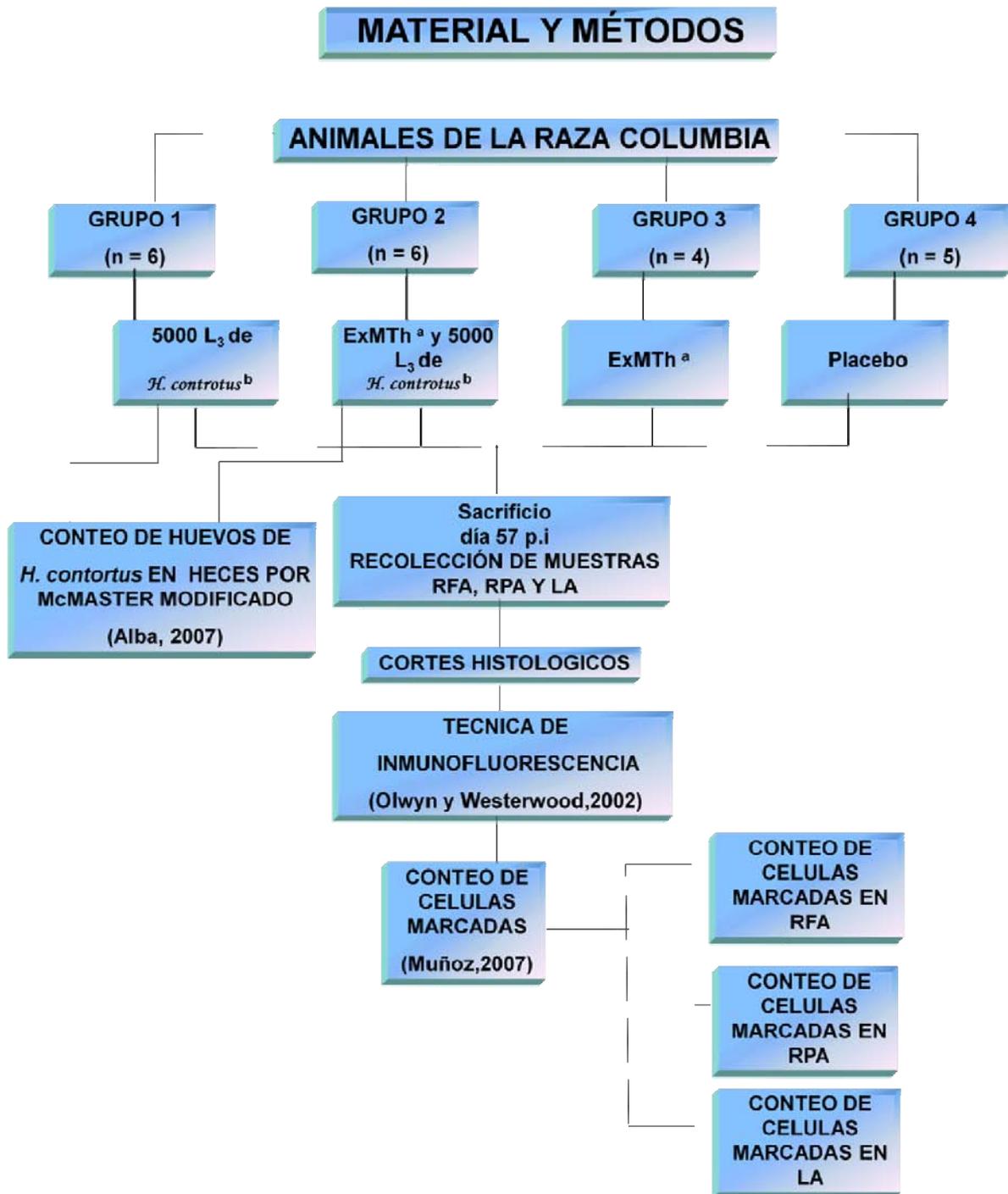
Los corderos del grupo 2 (n = 6) recibieron, el día -10 por vía intraperitoneal (v.i.p.) 600 mg de un ExMTh y 600 mg por vía intramuscular (i.m.), el día -6, 600 mg v.i.p. de ExmTh, el día -2 600 mg v.i.p. de ExmTh y 5,000 L3 de *Haemonchus contortus* por sondeo buco-esofágico el día 0.

Los animales del grupo 3 (n = 4) recibieron el día -10, 600 mg v.i.p y 600 mg i.m de ExmTh, el día -6, 600 mg v.i.p. de ExmTh y el día -2 del experimento 600 mg i.p de ExmTh, este grupo no recibió larvas.

Los corderos del grupo 4 (n = 5) se utilizaron como testigos y solo se les administró agua como placebo.

Todos los corderos fueron sacrificados el día 57, se tomaron muestras de aproximadamente de 1 cm<sup>2</sup> de linfonodo abomasal (LNA), y mucosa abomasal .Las muestras se mantuvieron a -80 °c hasta su uso.

Todos los tejidos se procesaron por la técnica de inmunofluorescencia y se contaron el número de células marcadas con anticuerpos anti-inmunoglobulinas de ovino.



<sup>a</sup> Dos dosis de 600 mg vía intraperitoneal y una dosis de 600 mg vía intramuscular

<sup>b</sup> Por sondeo buco-ruminal

Figura 4. Diseño experimental realizado para los objetivos de este trabajo.

**Obtención del extracto de metacestodo de *Taenia hydatigena*.**

Se colectaron metacestodos de *T. hydatigena* a partir de ovinos sacrificados en el rastro de Tlalnepantla, Edo de México. Las larvas colectadas se trasladaron en refrigeración a la UIMSA-FESC, donde se mantuvieron en congelación a -20°C. Para obtener los extractos, se descongelaron los metacestodos, se colectó el líquido vesicular y se le agregó una mezcla de inhibidores de proteasas (aprotinina 10 µg/ml, leupeptina 10 µ/ml, iodoacetamida 1.8 mg/ml y PMSF 1 mM SIGMA Labs). Posteriormente fue filtrado a través de un papel Watman, se adicionó (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> a razón de 0.42 g por ml y se centrifugó por una hora a 5000 rpm a 4°C, después se eliminó el sobrenadante y la pastilla fue resuspendida en PBS. El extracto fue nuevamente filtrado a través de membrana millipore de 0.22 µm, dividido en alícuotas y almacenado a -20°C, hasta su utilización. La cantidad de proteína contenida en el extracto fue determinada por el método convencional de Bradford (1976).

### **Inoculación de L3 de *Haemonchus contortus*.**

Los inóculos fueron obtenidos mediante una técnica modificada de cultivo larvario (Corticelli-Lai) realizada a partir de materia fecal de corderos infectados mono específicamente con una cepa de *H. contortus* que fue aislada a partir de un rebaño ovino comercial de Jilotepec, Estado de México, la cual ha sido mantenida por pases sucesivos en corderos (corderos donadores) criados bajo condiciones de estabulación total mantenida en el laboratorio (Cuenca, 2008). Cada inóculo consistió en una suspensión de 5,000 L3 de *H. contortus* y estos fueron suministrados a través de sondeo bucoesofágico directamente en el rumen de los corderos experimentales.

### **Obtención de muestras.**

En los días -14 y -7, 0, 7, 14, 20, 28, 36, 43, 50, y 57 del experimento se realizó la recolección de materia fecal directamente del recto de todos los animales.

El día 57 todos los corderos fueron sacrificados humanitariamente utilizando una pistola de embolo oculto. Inmediatamente después del sacrificio, se tomaron muestras de aproximadamente 1cm<sup>2</sup> de la mucosa abomasal, y linfonodo abomasal de cada uno de los animales. Estas muestras se incluyeron en un criopreservador OCT (Tissue Tek) y se congelaron en nitrógeno líquido para posteriormente ser almacenadas a -80°C en un ultracongelador hasta su utilización.

### **Determinación de células productoras de los isotipos de las IgA, IgG, e IgM.**

Con un criotomo se realizaron cortes de 5 µm de cada una de las muestras conservadas. Los cortes obtenidos fueron adheridos a portaobjetos con poli-L- lisina (Sigma labs) para evitar el desprendimiento del tejido, posteriormente fueron fijados en acetona durante 3 minutos y adheridos a portaobjetos. Los cuales se conservaron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento con la técnica de inmunofluorescencia.

Las laminillas se sumergieron por 24 horas en PBS a 4°C, al termino fueron bloqueadas con albúmina sérica bovina al 1% (ABS) en una solución de suero de cabra al 10% durante 90 minutos. Posteriormente se hicieron 3 lavados con PBS, después, se incubaron con 40 µl de la dilución de anticuerpos de conejo anti IgA (A130-108 Bethyl labs), anti IgG (A 130-101 Bethyl labs) ó anti IgM (A130- Bethyl labs) ovinas en PBS-ABS 2% a 37°C durante 90 minutos. Se hicieron 3 lavados con PBS y se incubaron 90 minutos a 37°C con 30 µl la dilución de un anticuerpo de cabra anti- IgG de conejo fluoresceinado (Sigma Labs) a una dilición de 1:25 en PBS con suero de cabra al 10%.

Finalmente se realizaron 3 lavados, cada uno de 5 minutos con PBS y se montaron en glicerol buferado al 90% para su observación. Se contaron las células marcadas en la mucosa y linfonodo abomasal utilizando un microscopio de epifluorescencia (OLYMPUS Inc.) fig 5

y 6, así como un software de análisis de datos (Image Pro Plus) con un lente objetivo de 40X. Se contó las células marcadas ( $IgM^+$ ,  $IgG^+$ ,  $IgA^+$ ) de la mucosa abomasal así como de linfonodo abomasal. Para cada subpoblación de células plasmáticas, se leyeron 30 campos, 15 de submucosa y 15 de mucosa, en el caso del linfonodo se leyeron 30 campos continuos registrándose la cantidad de células marcadas y el área del tejido analizado en  $\mu m^2$ . por la técnica de inmunofluorescencia Las cuentas fueron expresadas en células por  $cm^2$  de tejido (Bricarello y col., 2003).

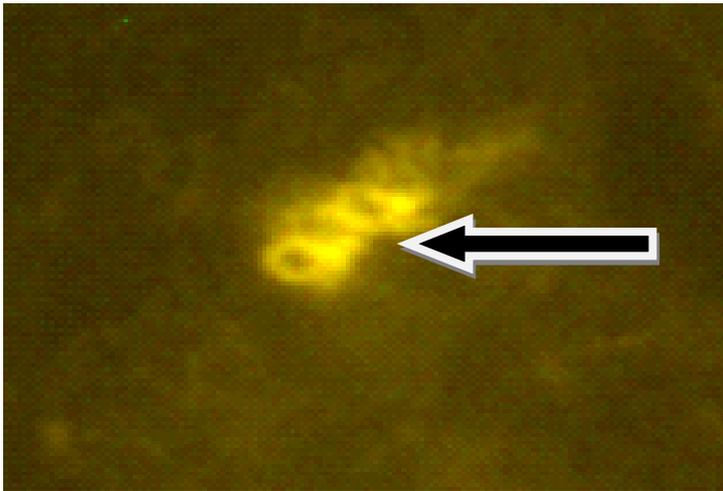
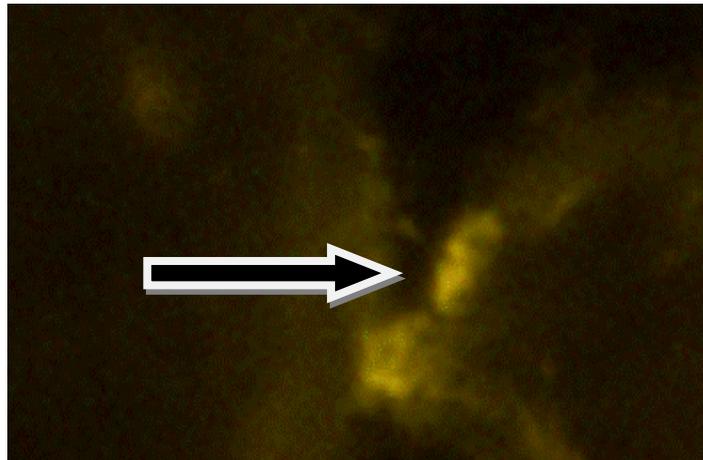


Figura 5.-Células plasmáticas en mucosa abomasal con la técnica de inmunofluorescencia vistas a 40x

Figura 6.-Células plasmáticas en linfonodo abomasal con la técnica de inmunofluorescencia vistas a 40x.



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA de una vía y las diferencias entre medias fueron obtenidas mediante prueba de Tukey utilizando un software estadístico (Graph Pad Prism versión 4).

## **RESULTADOS**

### Conteos de células plasmáticas en la mucosa abomasal

Los promedios de células IgM+, IgG+ e IgA+ encontradas en la mucosa abomasal se muestran en la figura 7. El análisis de ANOVA mostró un efecto del isotipo significativo ( $p < 0.01$ ) sobre el número de células plasmáticas encontradas en la mucosa abomasal, el promedio de células IgA+ fue mayor ( $p < 0.01$ ) en todos los grupos con respecto a los promedios de IgG+ e IgM+, también el promedio de células IgG+ fue mayor ( $p < 0.05$ ) en todos los grupos con respecto al promedio de células IgM+. No se observaron diferencias estadísticas entre los promedios de células plasmáticas de ningún isotipo entre los grupos estudiados ( $p > 0.05$ ).

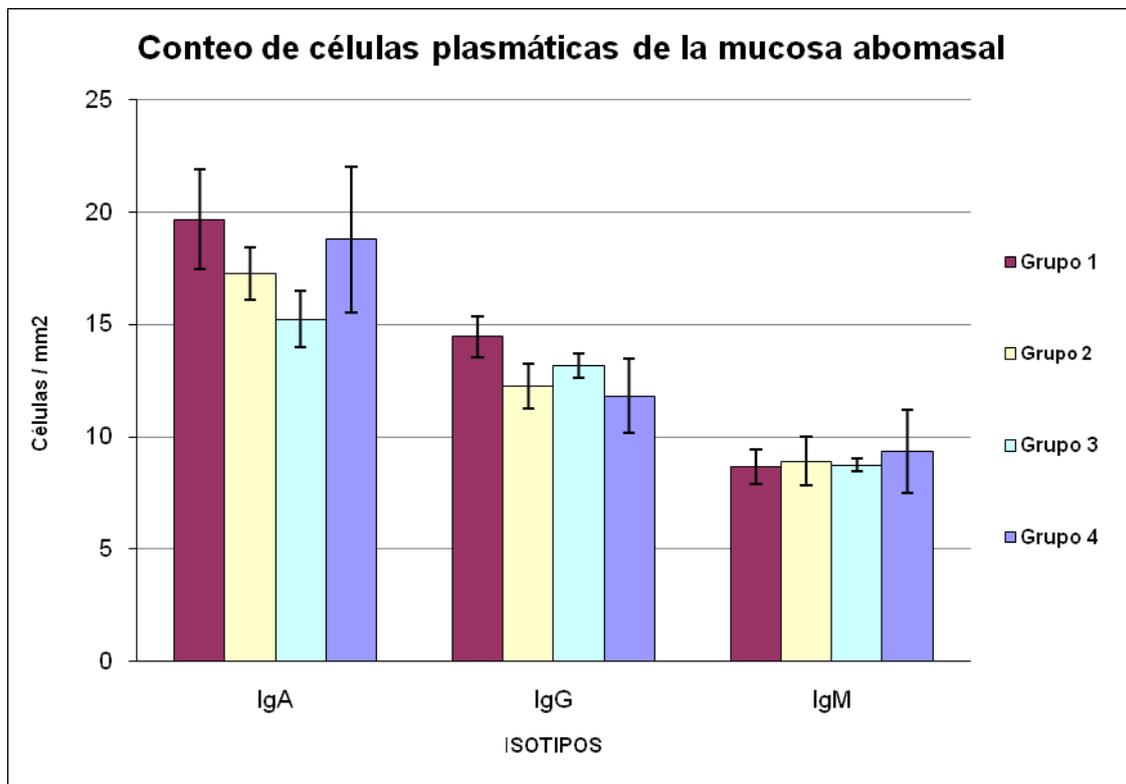


Figura.7- Promedio (+/-EE) del número de células plasmáticas por  $\text{cm}^2$  en cortes histológicos de la mucosa abomasal. Grupo 1.- Corderos infectados con *H. contortus*. Grupo 2.- Corderos inoculados con un extracto vesicular de *T. hydatigena* e infectados con larvas de *H. contortus*. Grupo 3: Corderos inoculados únicamente con extracto de vesicular de *T. hydatigena*. Grupo 4: Corderos sin tratamientos (grupo testigo).

## Conteos de células plasmáticas en el linfonodo abomasal

Los promedios de células IgM+, IgG+ e IgA+ encontradas en el linfonodo abomasal se muestran en la figura 8. En el análisis de ANOVA que no existe ningún efecto significativo ( $p>0.05$ ) de las variables grupo e isotipo sobre el número de células plasmáticas encontradas en esta región del abomaso.

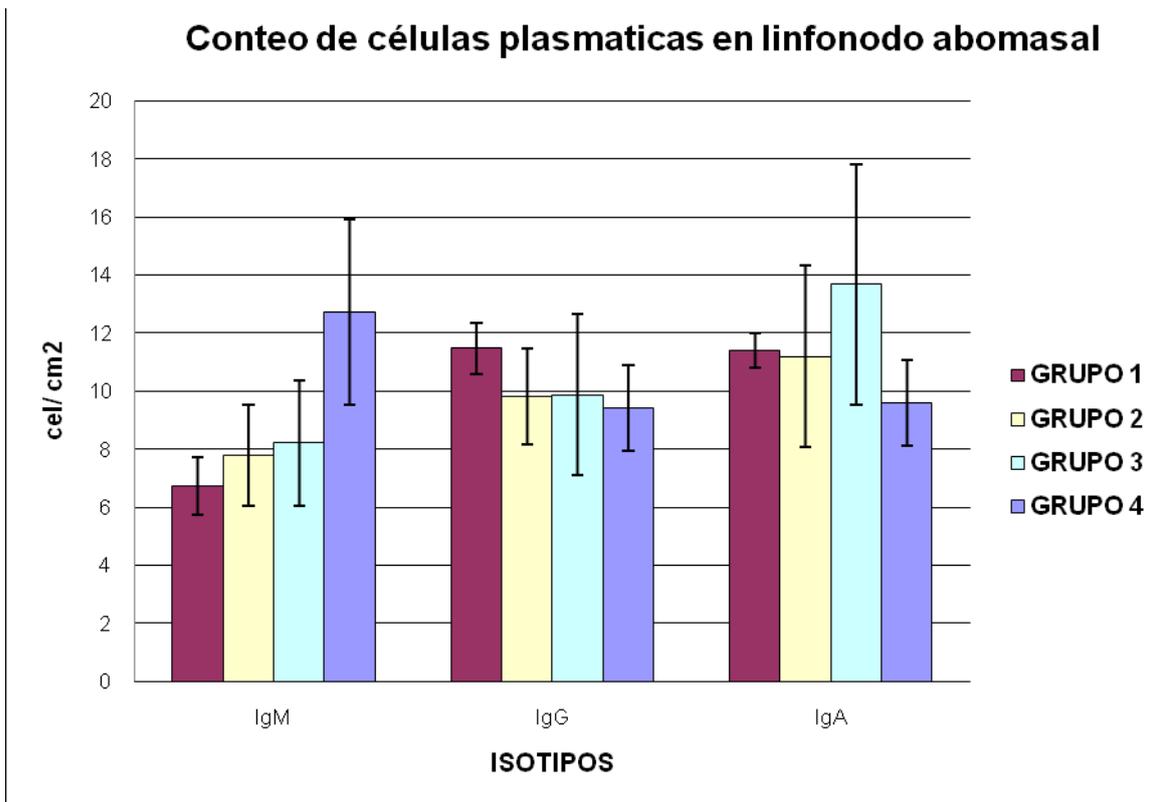


Figura.8- Promedio (+/-EE) del número de células plasmáticas por  $\text{cm}^2$  en cortes histológicos de linfonodo abomasal, Grupo 1.- Corderos infectados con *H. contortus*. Grupo 2.- Corderos inoculados con un extracto vesicular de *T. hydatigena* e infectados con larvas de *H. contortus*. Grupo 3: Corderos inoculados únicamente con extracto de vesicular de *T. hydatigena*. Grupo 4: Corderos sin tratamientos (grupo testigo).

### Conteo de huevos en materia fecal.

El promedio final de hgh se presenta en el cuadro 2 (Estos datos fueron presentados por Cuenca en 2007 como parte de su tesis de maestría). Los corderos del grupo 1 ( $5,332.4 \pm 2,795.8$ ) eliminaron significativamente mayor cantidad de hgh ( $p < 0.05$ ) que el de los corderos del grupo 2 ( $2,950.5 \pm 1,029.3$ ). Con respecto a el número de FA encontradas en el abomaso, también el grupo 1 ( $501.6 \pm 404.4$ ) tuvo un promedio significativamente más alto ( $p < 0.05$ ) que el grupo 2 ( $133.0 \pm 92.1$ ).

Correlación del número de huevos en heces en diferentes semanas del experimento.

GRUPO	DÍAS p. i.					
	20	28	36	43	50	57
L3	$1558.3^a$ $\pm 317$	$7833.3^a$ $\pm 1398$	$8291.6^a$ $\pm 2342$	$8383.3^a$ $\pm 1912$	$8450.0^a$ $\pm 2205$	$12616.6^a$ $\pm 3177$
ExmTh+L3	$1920.0^a$ $\pm 1019$	$4610.0^b$ $\pm 724$	$5340.0^b$ $\pm 960$	$2780.0^b$ $\pm 451$	$2370.0^b$ $\pm 640$	$3800.0^b$ $\pm 835$

Cuadro 2.- Promedio semanal ( $\pm$  EE) de huevos por gramo de heces, del Grupo 1: corderos infectados L3 de *H. contortus* y Grupo 2: corderos inoculados con un extracto vesicular de *T. hydatigena* y *H. contortus* Letras diferentes en los renglones indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

### Correlaciones de las variables estudiadas.

Las correlaciones de los promedios de células plasmáticas Ig+ por mm<sup>2</sup> con los parámetros de resistencia (hgh y FA) se presentan en el cuadro 3. Las correlaciones positivas más importantes observadas fueron: entre IgM e IgA de la Mucosa Abomasal (MA) (0.89). Las correlaciones negativas encontradas fueron en la MA: entre IgM e IgM de Linfonodo Abomasal (LNA) (-0.61), en la región de Linfonodo Abomasal(LNA): IgA e IgG (0.75). Entre IgG y FA (-0.57). Significancia (p< 0.05).

	<i>hgh</i>	<i>FA</i>	<i>IgA MA</i>	<i>IgG MA</i>	<i>IgM MA</i>	<i>IgA LNA</i>	<i>IgG LNA</i>	<i>IgM LNA</i>
<i>hgh</i>	1							
<i>FA</i>	0.63	1						
<i>IgA MA</i>	0.014	-0.078	1					
<i>IgG MA</i>	0.17	-0.45	0.34	1				
<i>IgM MA</i>	0.03	0.26	-0.09	-0.16	1			
<i>IgA LNA</i>	-0.12	0.29	0.01	-0.22	<b>*0.89</b>	1		
<i>IgG LNA</i>	0.04	0.57	0.28	-0.12	0.38	0.75	1	
<i>IgM LNA</i>	0.11	-0.15	-0.46	0.21	-0.61	-0.45	-0.237	1

Cuadro 5.- Coeficiente de correlación entre el número de huevos por gramo de heces (hgh) con células de la mucosa abomasal y células del linfonodo abomasal de corderos. Fases adultas (FA), mucosa abomasal (MA), y linfonodo abomasal (LNA). \*Significancia estadística (p< 0.05).

## DISCUSIÓN:

La hemoncosis es una de las principales causas de pérdidas económicas en las explotaciones ovinas de México y de muchas otras partes del mundo. El control de esta enfermedad usualmente se ha realizado con antihelmínticos, sin embargo, la aparición de cepas resistentes en muchos lugares del mundo a estimulado el desarrollo de nuevas alternativas de control, como el uso de hongos nematófagos, rotación de pastoreos y uso de razas de ovinos con alto grado de resistencia a la hemoncosis. La presencia de ovinos con diferentes grados de susceptibilidad a la enfermedad, lleva de manera lógica a preguntar cuales son las diferencias en las respuestas de los ovinos de alta y baja susceptibilidad, principalmente las de tipo inmunológico (Balic y col., 2000, Terefe y col., 2004).

Se ha demostrado que en infecciones mixtas ocasionalmente hay efectos antagónicos entre dos parásitos. En este contexto, se ha observado una reducción significativa de la carga parasitaria abomasal por *H. contortus* asociada al aumento de eosinófilos producido por la presencia de *O. ovis* en animales con infección mixta. En otro estudio, realizado en corderos infectados con *Trichostrongylus sp.* y *O. ovis* en forma mixta se observó un aumento de eosinófilos, mastocitos y leucocitos globulosos (globule leucocytes) en el tracto respiratorio y digestivo asociado a una menor carga parasitaria por *Trichostrongylus colubriformis*, concluyéndose la existencia de un efecto antagónico entre los dos parásitos (Terefe y col., 2004, Yacob y col., 2004. Yacob y col., 2008. Yacob y col., 2006 y Dorchie y col., 1997).

En el presente estudio se encontró una disminución de la carga parasitaria y de la eliminación de huevos posterior a la administración de un extracto de larvas de *T. hydatigena*. Por lo que es intención de conocer que fenómenos inmunológicos están asociados a esta protección en especial cual es el papel que juegan los anticuerpos locales que son secretados por las células plasmáticas a nivel abomasal.

En un trabajo precedente a éste, Cuenca (2008), determinó que la administración de un extracto del metacestodo de *Taenia hydatigena* (ExMTh) provocó un aumento significativo de los eosinófilos tisulares y sanguíneos. Esto correlacionó con una disminución significativa de la eliminación de huevos y de fases adultas de *H. contortus* en el ExMTh. Estas observaciones fueron muy similares a la interacción antagónica anteriormente reportada con *O. ovis*. Es por eso que resultó de particular interés el saber

si también las subpoblaciones linfocitarias eran afectadas por el ExMTh en los corderos Columbia y si estos cambios pudieron estar relacionados con la resistencia observada.

La presencia de linfocitos B activados y de células plasmáticas ha sido estudiada por diversos autores a través de marcadores como el CD45R (Perthner y col., 1996) CMH-II e inmunoglobulinas (Balic y col., 2000) o solo por la presencia de inmunoglobulinas en el citoplasma (Gill y col., 1993). En el presente trabajo se realizaron marcajes con anticuerpos fluorescentes anti-IgG, anti-IgM anti-IgA para determinar y contar las células positivas a cada inmunoglobulina (CEL- Ig+) así como su asociación con la presencia o ausencia de *H contortus*, se cuantificó el número de células plasmáticas en el lugar donde se encuentran los parásitos dentro del hospedador, por tal motivo, se tomaron muestras del abomaso de las regiones fúndica, pilórica y de linfonodo abomasales.

Se observó que la administración de extracto de *Taenia hydatigena* no provocó un aumento significativo en células productoras de los diferentes isotipos (IgA, IgM e IgG) con respecto al grupo testigo, tanto en la mucosa abomasal como en el linfonodo abomasal. Por lo que la protección observada en estos corderos no puede ser atribuida a los anticuerpos locales, sino que esta debe tener una causa diferente.

Las células plasmáticas más abundantes ( $p < 0.05$ ) en la mucosa abomasal fueron las IgA+, sin embargo, esto no puede ser asociado a la resistencia, puesto que las células IgA+ fueron también las más abundantes en los corderos del grupo testigo. Lo anterior contrasta con lo reportado por Gill y col. (1993) que determinaron la cinética de la producción de anticuerpos a nivel sérico y en extractos de materia fecal de animales genéticamente resistentes y los compararon con la cinética de un grupo no resistente. Ellos detectaron niveles significativamente mayores de IgG e IgA en el suero de los resistentes en comparación con los no resistente entre los días 10 y 31 pi. Si bien los anticuerpos específicos a nivel sérico pueden ser un indicador de infección. Los anticuerpos locales probablemente son más importantes en la protección y estos cuando menos no estuvieron relacionados a la protección en el modelo experimental utilizado.

En el presente estudio se correlacionaron el número de células plasmáticas positivas con el numero de huevos en heces y las faces adultas que son los indicadores de resistencia de los nematodos gastroentericos, siendo esta correlación baja, tanto en la mucosa abomasal como en el linfonodo abomasal. Los corderos infectados sólo

mostraron estadísticamente una diferencia en isotipos, siendo IgA el de mayor aumento en todos los grupos.

La administración del ExmTh posiblemente induce la producción de anticuerpos específicos contra el extracto, los cuales podrían tener algún tipo de cruce antigénico con *H. contortus* y contribuir a la menor tasa de establecimiento del parásito. Sin embargo, es una respuesta inespecífica asociada a los eosinófilos la probable responsable de la reducción del establecimiento, como fue reportado por Terefe y col. (2005).

En otro trabajo realizado por esta línea de investigación (González, 2010) que utilizo las mismas muestras que en el presente trabajo, determinando las poblaciones linfocitarias, por una técnica de inmunohistoquímica, se observó un aumento en el número de linfocitos CD4<sup>+</sup> en los grupos infectados con respecto al grupo testigo en las regiones del abomaso, sin embargo, solo fueron significativas ( $p < 0.05$ ) las encontradas en el grupo que recibió el extracto del metacestodo y larvas de *H. contortus* en la MA y en el grupo que solo recibió larvas de *H. contortus* en el LNA. Por lo que posiblemente la protección observada en estos corderos esta mas relacionada a la cantidad y tipo de diferentes subpoblaciones de linfocitos T que de linfocitos B y/o células plasmáticas,

Los resultados de este estudio muestran una posible interacción antagónica entre *T. hydatigena* y *H. contortus*, probablemente porque uno induce un tipo de respuesta inmunológica en el hospedador que protege aunque sea parcialmente de la infección por el otro. Los datos de los trabajos realizados por este grupo muestran que esta protección no estuvo asociada a los células plasmáticas y que probablemente esta protección está asociada a linfocitos T. Futuros trabajos en donde se demuestre que tipo de linfocinas producidas por subpoblaciones de linfocitos T, probablemente permitan determinar que tipo de respuesta inmunológica es la responsable de esta resistencia.

## CONCLUSIONES

El número de células plasmáticas productoras de IgA en los corderos utilizados para este trabajo, es mayor que el de células plasmáticas productoras de IgM e IgG en la región fúndica del abomaso.

El uso de extracto de metacestodo de *Taenia hydatigena* disminuyó significativamente el número de FA de *Haemonchus contortus* en el abomaso de los corderos del grupo ExMTh+L3.

No se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el número de células plasmáticas positivas en la mucosa abomasal entre los grupos estudiados.

No se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el número de células plasmáticas positivas en el linfonodo abomasal entre los grupos estudiados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, K. Abul. *Inmunología celular y molecular*. Madrid, España: Elsevier, 2004.
- Alba-Hurtado F. *Parasitología Veterinaria. Manual de laboratorio*. UNAM, 2007.
- Albers, G.A.A., Gray G.D. 1987. Breeding for worm resistance: a perspective. *Int. J. Parasitol.* 17: 559-566.
- Amarante, A.F.T., Craig, T.M., Ramsey, W.S. Davis, S.K., Bazer, F.W. 1999. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood on Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. *Vet parasitol.* 80:311-324.
- Balic, A., Veron, M.B., Els, N.T.M. 2000. The immunobiology of gastrointestinal nematode infection in ruminates. *Adv. Parasitol.* 45, 182-227.
- Bowles, V. M., Brandon, M.R., Meeusen, E, 1995 . Chracterization of local antibody responses to the gastrointestinal parasite *Haemonchus contortus*. *immunology* 84, 669-674.
- Blood, D.C., Radostits, O.M., Henderson, J.A., Arundel, J.H., Gay, C.C. 1986. *Medicina veterinaria*. Nueva Editorial Interamericana. 7ª Edición. México.
- Bueno, M.S., Cunha, E.A., Verísimo, C.J., Santos, L.E., Lara, M.A.C., Oliveira, S.M., Spósito Filha. E., Reboucas, M.M. 2002. Infección por nematodos en razas de ovejas cárnicas criadas intensivamente en la región del sudeste del Brasil. *Arch. Zootec.* 51, 271-278.
- Bricarello, P.A., Gennari, S.M., Olivera-Sequeira, T.C.G., Vaz, C.M.S.L., Goncalves de Goncalves, I. and Echeverria, F.A.M. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Crioula Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. 2003. *Small Ruminant Research.* 51, 75-83.

- Burke, J.M. and Miller, J.E. Relative resistance to gastrointestinal nematode parasites in Dorper, Katahdin, and St. Croix lambs under conditions encountered in the southeastern region of the United States. 2004. *Small Ruminant Research*. 54, 43-51.
- Buddle. M.B., Jowett, G., Green, S.R., Douch, C.G.P., and Risdon L.P. 1992. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *International Journal for Parasitology*. 22. 7, 955-960.
- Byszewska- Sponcinska, E. y Stankiewicz, M. (1985). Immunological studies on experimental hemoncosis in sheep. IV. Multiple infections of Polish long-wool Sheep. *Acta Parasitologica Polonica*. 30(11): 95-108.
- Caballero, S.M.L. 1998. Inmunología de la infección por helmintos. *Rev. Esp. Alergol Immunol Clín*. Vol 13. 6. pp. 297-313.
- Campos, R.R., Herrera, R.D., Quiroz, R.H. 1992. Diagnóstico in vivo de *Haemonchus contortus* resistente al albendazol, febendazol, oxfendazol y febantel en tres rebaños ovinos Tabasco o Pelibuey. *Vet Méx*. 23, 51-56.
- Cordero, C.M., Rojo, V.F.A., Martínez, F.A.R., Sánchez, A.M.C., Hernández, R.S., Navarrtete, L.C.I., Diez, B.P., Quiroz, R.H., Carvalho, V.H. Parte III: Parasitosis de los rumiantes, parasitología veterinaria. Mac Graw Hill- Interamericana, Madrid España, 1999. pp 195-448
- Cox, F.E.G. 2001. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology*. 122, 23-38.
- Cuéllar, O.J.A. 1986. Nematodiasis gastroentérica. En: Principales enfermedades de los ovinos y caprinos. Edit. P. Pijoan A. y J. Tórtora. México. 112-118.
- Cuéllar, O.J.A. 1992. Epidemiología de las helmintiasis del aparato digestivo en ovinos y caprinos. Mem. Curso: *Principios de helmintología veterinaria en*

*rumiantes y cerdos*. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.

- Cuenca, V.C., y Cuenca, V.N.M. Comparación de la cantidad, tamaño y prolificidad de fases adultas de *Haemonchus contortus* en una infección experimental en ovinos Columbia y Blackbelly. Tesis de licenciatura, UNAM, México, 2005.
- De Lucas, T.J. 2001. La Columbia, gregaria y buena madre. La revista del borrego. Editorial Eklipse. 8:39.
- Doligalska, M., Moskwa, B. and Otear, M.J. 1999. Relationships among peripheral eosinophilia, eosinophil peroxidase activity, interleukin-5 concentration and fecal nematode egg count during natural, mixed gastrointestinal nematode infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 70. 299-308.
- Dorchies, P., Bergeaud, J.P., Van Khanh, N and Morand, S. Reduce egg counts in mixed infections with *Oestrus ovis* and *Haemonchus contortus*: influence of eosinophiles?. 1997. *Parasitol Res*. 83,727-730.
- Dunn, A.M. 1983. *Helmintología veterinaria*. Editorial El Manual Moderno. México. 221-223.
- Dwighy D. Bowman. *Georgia parasitología para veterinarios*. España: Elsevier, 2004, 234-236.
- Farías, S.U., Vázquez, P.V. y Campos, R.V. 1988. Determinación del incremento en la eliminación de huevos de nematodos gastroentéricos posparto en ovejas. *Tec. Pec. Méx*. 26, 259-566.
- Gasbarre, L.C. 1997. Effects of gastrointestinal nematode infection on the ruminant immune system. *Veterinary Parasitology*. 72, 327-343.

- Gaxiola, S.M., Borbolla, J.E. y Rubio, M.C. 1996. Contribución al estudio de los nematodos abomasales de ovinos en Culiacán, Sinaloa. Memorias del XII Congreso Nacional de Parasitología. México. 105.
- George, S., Quiroz, H. 1993. Frecuencia de parásitos gastrointestinales, pulmonares y hepáticos en ovinos de La Magdalena Soltepec, Tlaxcala, México. *Vet. Méx.* 24: 195-198.
- Gill, H.S., Husband, A.J., Watson, D.L. 1992. Localization of Immunoglobulin-containing cells in the abomasums of sheep following infection with *Haemonchus contortus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15,178-187.
- Gill, H.S., Colditz, I.G., Watson, D.L. 1993. Immune responsiveness of lambs selected for resistance to haemonchosis. *Res. Vet. Sci.* 54, 361-365.
- Gill, H. S., Altmman, K., Cross, M.L., Husband, J.A. 2000. Induction of T helper1- and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Immunology* 99, 458-463.
- Gómez-Muñoz, MT., Cuquerella, M., Gómez, I.L.A., Méndez, S., Fernández, P.F.J., Fuente, C. 1999. Serum antibody response of Castellana sheep to *Haemonchus contortus* infection and challenge: relationship to abomasal worm burdens. *Vet. Parasitol.* 81 (4): 281-293.
- Gonzales A. J., Efecto de la inoculación de antígenos de los metacestodos de *Taenia Hydatigena* sobre las poblaciones linfocitarias a nivel abomasal en ocerdos de la raza Columbia infectados experimentalmente con *Haemonchus Contortus*. Tesis de licenciatura, UNAM, México, 2009.
- Hernández, M.F.R., Caracterización fenotípica y de virulencia de una cepa de *Haemonchus contortus* de origen ovino. Tesis de licenciatura, UNAM, México, 2005.
- Hohenhaus M.A., Outteridge P.M. 1995. The immunogenetics of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* parasites in sheep. *Brit. Vet. J.* 151. 119-140.

- Hooda, V., Yadav, C.L., Chaudhri, S.S., Rajpurohit, B.S. 1999. Variation in resistance to haemonchosis: selection of female sheep resistant to *Haemonchus contortus* J. Helminthol. 73 (2): 137-142.
- Karanu, F.N., McGuire, T.C., Davis, W.C., Besser, T.E. and Jasmer, D.P. 1997. CD4+ T lymphocytes contribute to protective immunity induced in sheep and goats by *Haemonchus contortus* gut antigens. Parasite Immunology. 19,435-445.
- Kassai, T. 2002. Helminología veterinaria. Editorial, Acribia, Zaragoza España
- Lapage, G. 1976. Parasitología veterinaria. Editorial Continental. México. 121-127.
- Maena, M.A., Rojo, V.F.A. 1999. Tricostrogilosis y otras nematodosis. En: Parasitología veterinaria. Edit. por Cordero, C.M. y Rojo, V.F.A. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México.
- Meusen, E.N.T. and Balic, A. 2005. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. Veterinary Immunology and Immunopathology. 108: 121-125.
- Montaña, H. J. A. Complejo principal de histocompatibilidad, Temas selectos de inmunología veterinaria. Manual moderno. México D.F., México, 2005. pp. 47-60.
- Montaraz J.A. Introducción a la inmunología Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Impreso y hecho en México. 1997.
- Morteo-Gómez, R.G., Torres, H.G., Nuncio, O.G., Becerril, P.C., Gallegos, S.J. y Aranda, I.E. 2004. Efecto de la variación fenotípica en la resistencia de corderos pelibuey a la infestación con nematodos gastrointestinales. Agrociencia. Vol 38 No 4.
- Mugambi, J.M., Bain, R.K., Wanyangu, S.W., Ihiga, M.A., Duncan, J.L., Murray, M., Stear, M.J. 1997. Resistance of four sheep breeds to natural and

- subsequent artificial *Haemonchus contortus* infection. *Veterinary Parasitology*. 69, 265-273.
- Muñoz-Guzmán, M.A., Cuellar, O.J.A., Valdivia, A.A.G., Buendía J.J.A., Alba, H.F. 2006. Correlation of parasitological parameters in sheep with high and low resistance to Haemoncosis. *Canadian Journal of Animal Science*. 86, 363-371.
  - Muñoz, G.M.A. Evaluación comparativa de la respuesta inmune contra *Haemonchus contortus* en razas de alta y baja susceptibilidad. Tesis doctoral, UNAM. México, 2007.
  - Peña, M.T., Miller, J.E. and Horohov, D.W. Effect of CD4+ T lymphocyte depletion on resistance of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. 2006. *Veterinary Parasitology*. 138, 240-246.
  - Pérez, J., Zafra, R., Buffoni, L., Hernández, S., Cámara, S and Moreno, M.A. Cellular Phenotypes in the Abomasal Mucosa and Abomasal Lymph Nodes of Goats Infected with *Haemonchus contortus*. 2008. *J. Comp. Path.* 138, 102-107.
  - Pernthaner, A., Stankiewicz, M., Cabaj, W., Pfeffer, A., Green, R.S. and Douch, P.G.C. Immune responsiveness of nematode-resistant or susceptible Romney line-bred sheep to continuous infection with *Trichostrongylus axei*. 1996. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 51, 137-145.
  - Pfeffer, A., Douch, P.G.C., Shaw, R.J., Gatehouse, T.K., Rabel, B., Green, R.S., Shirer, C.L., Jonas, W.E. and Bisset, S. Sequential Cellular and Humoral Responses in the Abomasal Mucosa and Blood of Romney Sheep Dosed with *Trichostrongylus axei*. 1996. *International Journal for Parasitology*. 26, 765-773.
  - Quiroz, R.H. 2003. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 1ª ed. Edit. LIMUSA. México. 441-458.

- Radostits, O.M., Gay C.C., Blood D.C., Hinchcliff K.W. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol II. 9ª ed. Mc Graw Hill España. 1599-1603
- Soulsby, E.J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª ed. Interamericana México.
- Smith, W.D. (1999). Prospects for vaccines of helminth parasites of grazing ruminants. Int. J. Parasitol. 29, 17-24 pp.
- Sréter, T., Kassai, T., Takács, E. 1994. The heritability and specificity of responsiveness to infection with *Haemonchus contortus* in sheep. Int. J. Parasitol. 24 (6), 871-876.
- Terefe, G., Jacob, H.T., Grisez, C., Prevot, F., Dummas, E., Bergeaud, J.P., Dorchies, Ph., Hoste, H. and Jacquiet, P. 2005. *Haemonchus contortus* egg excretion and female length reduction in sheep previously infected with *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae) larvae. Veterinary Parasitology. 128, 271-283
- [Thekebun.files.wordpress.com/2008/10/haemonch](http://Thekebun.files.wordpress.com/2008/10/haemonch)
- Tizzard Ian, R. 2002. Inmunología veterinaria. Mac Graw Hill-Interamericana 6a edición. México D.F
- Torres, A.J.F., Aguilar, C.A. 2000. Nematodos gastrointestinales de caprinos y ovinos en el trópico: Control integral. Notas de curso Medicina y enfermedades infecciosas de pequeños rumiantes en el trópico. Yucatán, México. 114-117.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. Helminthología veterinaria, Parasitología veterinaria Acribia, Zaragoza, España, 2001. pp. 3-155.
- Vazquez P.V. m 2000. Agentes etiológicos y ciclo de vida de los nematodos gastroentericos. En 1er. Curso internacional “ Nuevas perspectivas en el diagnostico y control de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes”.

Universidad Autonoma de Yucatan. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Yuc. P. 1-5.

- Waller, J.P., Echevarria, F., Eddi, C., Maciel, S., Nari, A., Hansen, J.W. 1996. The prevalence of antihelminthic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General overview. *Veterinary Parasitology*. 62: 181-187.
- Yacob, H.T., Basazinew, B.K. and Basu, A.K. Experimental concurrent infection of Afar breed goats with *Oestrus ovis* (L1) and *Haemonchus contortus* (L3): Interaction between parasite populations, changes in parasitological and haematological parameters. 2008. *Experimental Parasitology*. 120,180-184.
- Yacob, H.T., Duranton-Grisez, C., Prevot, F., Bergeaud, J.P., Bleuart, C., Jacquiet, Ph., Dorchies, Ph and Hoste, H. Experimental concurrent infection of sheep with *Oestrus ovis* and *Trichostrongylus colubriformis*: negative interactions between parasite populations and related changes in the cellular responses of nasal and digestive mucosae. 2004. *Veterinary Parasitology*. 104,307-317.
- Yacob, H.T., Dorchies, Ph., Jacquiet, Ph., Bleuart, C., Prevot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.P. and Hoste, H. 2005. Concurrent parasitic infections of sheep: depression of *Trichostrongylus colubriformis* populations by a subsequent infection with *Oestrus ovis*. *Veterinary Parasitology*. 121, 297-306.
- Yacob, H.T. Terefe, G. Jacquiet, Ph. Hoste, H. Grisez, C. Prévot, F. Bergeaud, J.P. Dorchies, Ph. 2006. Experimental concurrent infection of sheep with *Oestrus ovis* and *Trichostrongylus columbiformis*: effects of antiparasitic treatments on interactions between parasite populations and blood eosinophilic responses. *Veterinary Parasitology*. 137, 184-181.