UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ANTICUERPOS AGLUTINANTES SOBRE LA LARVA II y III DE *Ascaridia galli*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

VICTOR LEON OCAMPO

MEXICO, D. F. 1972

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

ANTICUERPOS AGLUTINANTES SOBRE LA LARVA II Y III DE *Ascaridia galli*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

VICTOR LEON OCAMPO

MEXICO, D. F. 1972

TESIS PROFESIONAL

A mis padres

Víctor León García

Luz Ocampo de León

Con cariño y agradecimiento,

quienes con su ejemplo y rec-

titud alentaron en mí el impul-

so de superación.

A mis hermanos.

A mi Asesor Técnico

M. V. Z. Héctor Quiroz Romero.

A mis maestros

y

amigos.

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina -- Veterinaria y Zootecnia, bajo la dirección del M. V. Z. S. P. V. Héctor Quiroz Romero.

CONTENIDO

I. - INTRODUCCION

II. - MATERIAL Y METODOS

III. - RESULTADOS Y DISCUSION

IV. - CONCLUSION

V. - BIBLIOGRAFIA

ANTICUERPOS AGLUTINANTES SOBRE LA LARVA II Y III DE *Ascaridia galli*

INTRODUCCION

Siendo de suma importancia las pérdidas económicas ocasionadas por la ascaridiosis, ha sido esta enfermedad parasitaria objeto de innumerables investigaciones durante los últimos años, sin embargo en el aspecto inmunológico han sido pocas las que sobre ella se han realizado. El descubrimiento y aplicación de nuevos procedimientos inmunológicos al respecto, sin duda alguna redundarán en beneficio de la avicultura nacional mediante la disminución o extinción de este problema.

El objeto del presente trabajo es demostrar la existencia de anticuerpos aglutinantes para *Ascaridia galli* en la sangre de pollos infectados y su acción sobre el segundo y tercer estadio larvario de este parásito.

Para la formación de anticuerpos producidos por helmintos se necesita una constante repetición de las infeccio-

nes hasta que finalmente el mecanismo defensivo inmuno com-- petente precida las relaciones del huésped con el parásito - - - (Borchert 1965).

Olsen (1967) indica que los anticuerpos precipitan-- tes pueden ser detectados en el suero de pollos infectados, con dosis conocidas de huevos larvados de A. galli.

Los antígenos, producidos por helmintos, son sus-- tancias extrañas de peso molecular elevado, que poseen varios grupos químicos, capaces de estimular la formación de anti--- cuerpos cuando se inyectan profundamente o en los tejidos epi-- teliales de un animal (Brundaya 1966).

Pruebas In vitro de larvas vivas puestas en contac to con suero de aves infectadas demostraron precipitación en la abertura bucal y anal (Tongson et al 1966).

Elliott (1954) modificó una técnica utilizada por -- Pitts (1948) para romper huevos larvados de A. galli y obtener el segundo estadio larvario.

Algunos parásitos no son capaces de producir inmu nidad permanente en el huésped y frecuentemente fracasan las - tentativas de conferir inmunidad mediante las inyecciones de -- extractos de helmintos, estas substancias son sumamente hete-

rogéneas en su composición química (Boero 1964).

Como resultado de sus investigaciones, Leikina --- (1966) elaboró un rápido diagnóstico inmunológico de ascaridiosis mediante pruebas de precipitación capilar.

Ackert et al (1947) elaboró una técnica improvisada para cultivar huevos larvados de A. galli en el menor tiempo posible y administrarlos a pollos.

Soulsby (1963) en sus investigaciones reporta la -- existencia y naturaleza de antígenos en la cutícula externa de -- helmintos.

MATERIAL Y METODOS

Se colectaron especímenes hembras de A. galli, -- los cuales se utilizaron para elaborar cultivos de huevos.

También se colectaron especímenes machos de A. - galli con los cuales se procedió a elaborar antígeno somático.

Se determinó el porcentaje de proteína cruda del antígeno por el método de Biuret.

Técnica para elaborar cultivos de huevos de A. galli.

Los parásitos hembras colectados se lavaron tres - veces con solución salina fisiológica estéril (s. s. f. e.). Se molieron con mortero, agregando s. s. f. e., a la mezcla obtenida - se le agregó formol al 2% para evitar la contaminación. Esta - mezcla se depositó en cajas de Petri y se mantuvo a temperatura ambiente.

Técnica para elaborar antígeno somático.

Los parásitos machos colectados se lavaron tres veces con s. s. f. e., se pesaron y molieron con mortero, agregan

do diez veces su peso de s. s. f. e. Esta mezcla se centrifugó a 2500 r. p. m. durante 15 minutos y el sobrenadante se envasó -- herméticamente en frascos estériles, los cuales se mantuvieron a -20°c hasta su uso.

A los 40 pollos raza leghorn blanca utilizados en el presente trabajo se mantuvieron libres de parasitosis, haciéndoseles exámenes coproparasitoscópicos cada tercer día hasta su utilización. Cuando tuvieron 2 meses de edad fueron divididos en tres lotes.

El lote No. 1 con 15 pollos, se inocularon con antígeno somático de A. galli por vía intramuscular e intraperitoneal con el objeto de obtener suero hiperinmune. Según la técnica que a continuación se describe.

Preparación de suero hiperinmune.

Para elaborar suero hiperinmune se inocularon 15 pollos con antígeno somático de A. galli, 1 ml por vía intraperitoneal y 1 ml por vía intramuscular cada tercer día hasta completar cinco dosis. Posteriormente se sangraron por punción directa al corazón a los 10, 20 y 30 días después de la última inoculación con el antígeno.

Obtención de larvas II y III.

La larva II se obtuvo al ser liberada de huevos larvados, los cuales fueron colocados en una solución de partes -- iguales de hidróxido de sodio al 10% e hipoclorito de sodio al -- 10% durante 24 hrs. Los huevos se sacaron de esta solución y fueron lavados tres veces con s. s. f. e., la liberación de la larva se efectuó por centrifugación a una velocidad de 2000 a 3000 r.p.m. durante 12 minutos.

Para la obtención de la larva III fue necesario inocular un segundo lote de 15 pollos, a los cuales se les administró por vía oral 400 huevos larvados a cada uno y se sacrificaron - diez días después de la fecha de inoculación, se colectaron los intestinos a los cuales se les hizo incisión longitudinal, se cortaron en trozos de 5 cms. de longitud y fueron sometidos a di-- gestión artificial en aparato de Baermann para obtener la libe-- ración de las larvas.

El lote tres que constó de 10 pollos testigos, se utilizó para sangrarlos y obtener suero normal. Estos pollos se mantuvieron en condiciones higiénicas, practicándoseles exámenes coproparasitoscópicos periódicamente, para tener la seguri

BIBLIOTECA CENTRAL
U. N. A. M.

dad de que durante su empleo no se infectaran.

Exposición de larvas con suero hiperinmune.

Las larvas vivas del segundo estadio se depositaron respectivamente en cajas de Petri de 5 cms. de diámetro conteniendo 4 ml. de suero hiperinmune obtenido a los 10, 20 y 30 -- días, se incubaron en baño Wassermann a 37°c durante 24 a 48 horas, tiempo en que se hizo la observación.

Las larvas vivas del tercer estadio se depositaron - respectivamente en cajas de Petri de 5 cms. de diámetro conteniendo 4 ml. de suero hiperinmune obtenido a los 10, 20 y 30 -- días, se incubaron en baño Wassermann a 37°c durante 24 a 48 horas.

Exposición de larvas con suero normal.

Las larvas vivas del segundo y tercer estadio se pusieron en contacto con 5 ml. de suero normal de pollos testigos, se incubaron en cajas de Petri a 37°c en baño Wassermann durante 24 a 48 horas.

Se consideraron reacciones positivas cuando se presentó la formación de grumos alrededor de la abertura bucal y anal, o bien en forma de una pequeña masa esférica.

La observación de las reacciones se hizo en el mi--

croscopio compuesto con objetivo de 400 diámetros de aumento.

RESULTADOS Y DISCUSION

1.- El porcentaje de proteína cruda del antígeno preparado, fue de 0.65% por ml, demostrándose la efectividad de un antígeno con un porcentaje bajo de proteína, variando con lo reportado por Carpenter, quién considera buen antígeno aquel que contiene como mínimo 1% de proteína cruda. En observaciones en otras tesis se demostró que antígenos con bajo porcentaje de proteína dieron resultados positivos en pruebas de precipitación capilar e inmunodifusión.

2.- Se modificó la técnica utilizada para romper huevos larvados, utilizándose hipoclorito e hidróxido de sodio al 10% en lugar de una solución de estas sustancias al 3% como la utilizada por Elliott en 1954.

3.- Se confirmó la existencia de anticuerpos en la sangre de pollos que recibieron previas inoculaciones con antígeno somático por vía intramuscular e intraperitoneal.

4.- En las pruebas de exposición del segundo y ter

cer estadio, se demostró la antigenicidad de la secreción bucal de la larva al ocurrir aglutinación frente a sueros hiperinmunes obtenidos a los 10 y 20 días, lo cual confirma las observaciones de Tongson (1966) y Sadun (1948).

5.- Se necesitó un número de cinco dosis de antígeno para elevar el nivel de anticuerpos, lo cual está en relación con la respuesta hiperinmune conforme a la siguiente explicación: La primera inoculación de antígeno ocasiona una elevación lenta de anticuerpos, a la segunda inoculación las cifras de anticuerpos caen de inmediato pues el anticuerpo ya circulante lo neutraliza, al cabo de unos días el nivel de anticuerpos mantenido bajo se eleva rápidamente hasta un nivel máximo cuya altura puede ser diez o cincuenta veces mayor al nivel máximo de la respuesta primaria, esta respuesta secundaria termina con una caída brusca desde la cúspide. Un tercer estímulo reproduciría el proceso y de nuevo se ascenderá rápidamente a un máximo que será algo superior al de la respuesta segunda. Otros estímulos repetidos a intervalos pueden subir cada vez más la cúspide hasta un momento en que ya no es posible una nueva elevación (Humphrey 1964).

6.- Se presentó formación de grumos alrededor - de la abertura oral a las 24 horas en el segundo y tercer esta-- dio larvario, lo anterior ocurrió únicamente frente a sueros hi perinmunes obtenidos a los 10 y 20 días como resultado de una elevación del nivel de anticuerpos por una respuesta primaria - inmune constituída por un período de latencia o fase inductiva, - seguida de una fase productiva donde se acelera progresivamen te la síntesis de anticuerpos hasta llegar a un límite determina- do que se estabiliza y después continúa con una curva de descen so.

7.- El segundo y tercer estadio larvario colocados en suero "hiperinmune" obtenido a los 30 días, no presentaron - reacción positiva debido a una concentración baja de anticuer-- pos que resulta de una cesación de la respuesta inmune lo cual obedece a la eliminación de proteína extraña por procesos cata bólicos normales, manifestándose por una disminución del antí geno hasta dejar circulando cerca del 10% de las cantidades ini cialmente inyectadas, posteriormente ocurre una pérdida acele rada debido a la producción de anticuerpos frente a las proteí- nas extrañas que actúan como antígenos y de la combinación --

AG-AC que son rápidamente retiradas de la circulación por procesos fagocíticos. Los anticuerpos no son detectables en la circulación porque se encuentran en muy bajas concentraciones.

8.- Ninguna reacción ocurrió en el segundo y tercer estadio larvario puestos en contacto con suero normal de pollo, debido a la ausencia de anticuerpos o a su bajo título.

CONCLUSION

1. - Se preparó y utilizó un antígeno con un promedio de 0.65% de proteína cruda. El porcentaje de proteína fue determinado por el método de Biuret.

2. - Se modificó la concentración de una solución - utilizada para romper huevos larvados de A. galli, utilizándose hipoclorito e hidróxido de sodio al 10% en lugar de esta misma - solución empleada por Elliott en 1954.

3. - Se preparó suero hiperinmune de 10, 20 y 30 - días, previa inoculación de pollos con antígeno somático por vía intramuscular e intraperitoneal de acuerdo con la técnica ex--- puesta anteriormente.

4. - Se realizaron exposiciones del segundo y ter-- cer estadio larvario frente a sueros hiperinmunes, obtenidos a diferentes tiempos después de la última inoculación con antíge- no, observándose reacción positiva en el segundo y tercer esta- dio, puestos en contacto con sueros obtenidos a los 10 y 20 días.

5.- No se observó reacción positiva en aquellas -- larvas que fueron expuestas frente a suero normal de pollos testigos.

6.- En las reacciones consideradas como positivas sólo se formaron grumos en la abertura bucal de las larvas vivas, no ocurriendo esto en las larvas muertas. El porcentaje de reacciones positivas fue de 51.7% (de 28 larvas sólo 16 - presentaron reacción positiva).

BIBLIOGRAFIA

1. - Ackert J. E., Rhoda M. Cooper and Dewrist. 1947. Viability of ascaridia eggs under varying conditions of age and administration. Trans. Am. Micro. Soc. 66 (4): 383-389.

2. - Boero, J. J. 1964 Enfermedades parasitarias Editorial Universitaria. Tomo I, Pág. 50-58.

3. - Borchert. 1964 Parasitología Veterinaria Editorial Acribia. Págs. 54, 66, 136 y 137.

4. - Brundaya, S. M. 1966. Allergie skinreaction and diagnostic method for migrational stage of ascaridiasis. Academy of Sciences the URSS. Contributions to helmintology. Págs. 73-85.

5. - Deo, P. G. and Srivastava, H. D. 1962. Estudies on age resistance of chicken to A. galli. J. Vet. Sci. 32, 93, 96.

6. - Elliott A. 1954. Relathionship of aging food reserves and infectivity of larvae of Ascaridia galli. Exp. Parast. 3-309.

7. - Hansen, M. F., Olson L. J. and Ackert J. E. 1954. Improved techniques for culturing and administering ascarid eggs to experimental chicks. Exp. Parast. 3:464-474.

8. - Lapage Geoffrey. 1971. Parasitología Veterinaria Compañía Editorial Continental, S. A. Pág. 69-71.

9. - Leikina E. S. 1966. Early inmunologycal diagnosis of ascaridiosis Academy of Sciences of the URSS. Contributions to helmintology. Págs. 362-375.

10. - Olsen O. Wilford. 1967. Animal parasites their biology and life cycles burgess publishing company. Pág. 358.

11. - Pitts (1948). Citado por Elliott.

12. - Sadun E. 1948. The antibody basis of inmunity in chickens to the nematode A. galli. Am. J. Hyg. 49: 101-116.

13. - Sadun E. 1949. The effect of single infections of variable

size on the resistance of chickens to the nematode A. galli. Am. J. Hyg. 49: 117-125.

14. - Soulsby E. J. L. 1963. The nature and origen of the functional antigens in helminth infections. Annals of the New York Academy of Sciences. 113 (1): 492-506.

15. - Tongson M. S. and McCraw B. M. 1966. Host age and dose size as factors in the worm populations structure of A. galli infections in chickens. Phillip. J. Vet. Ved. 5: 1-30.

BIBLIOTECA CENTRAL
U. N. L. M.