



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

**AISLAMIENTO DE UNA CEPA DE *Haemonchus*
contortus DE ORIGEN OVINO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

LENIN VALDEZ RAMÍREZ

ASESOR: M.C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ.

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO. 2004.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Aislamiento de una cepa de Haemonchus contortus de origen ovino.

que presenta el pasante: Lenin Valdez Ramírez
con número de cuenta: 9256666-4 para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 5 de marzo de 2004

PRESIDENTE	<u>Dr. Guillermo Tomás Oviedo Fernández</u>	
VOCAL	<u>M.C. Jorge Alfredo Cuéllar Ordaz</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. Jorge Tórtora Pérez</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dr. Fernando Alba Hurtado</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.C. Juan Carlos del Río García</u>	

¡Dedico este trabajo!

A mis padres:

**Sr. Valente Pedro Valdez Flores
Sra. Jovita Ramírez Rodríguez**

Por su apoyo, confianza y consejos siempre brindados que me impulsaron para terminar mi carrera profesional, la mejor y la mas valiosa herencia

A mis hermanas **Rosa Elia y Maria de Jesús Valdez Ramírez** y a todas aquellas personas que de una u otra manera me brindaron su amistad, compañía y me exhortaron a seguir adelante.

A mi bebe Onésima Chávez Sánchez
por su apoyo, su compañía y la confianza que me tiene

¡Quiero darles las gracias!

A dios que me ha dado la oportunidad de estudiar y terminar mi carrera profesional.

A mi asesor:
M en C Jorge Alfredo Cállar Ordaz por su apoyo y su tiempo dedicados al desarrollo de este trabajo.

Al M en C. Enrique Flores Gasca por su apoyo y participación en este trabajo.

A mis maestros de la facultad que me han dado los conocimientos necesarios para poderme desenvolver como Médico Veterinario Zootecniata.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	19
Material y métodos	20
Resultados	25
Discusión	29
Conclusiones	32
Bibliografía	33

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objeto el aislar y mantener una cepa de *Haemonchus contortus* de origen ovino proveniente de un caso clínico comprobado de nematodiasis gastroentérica adquirida de forma natural. Además se evaluaron dos técnicas para lograr ese propósito y se logró reproducir, mantener y transferir la cepa aislada. El trabajo se desarrolló en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM (Módulo de Posgrado y Laboratorio de Parasitología). Se utilizaron 16 animales, uno con infección natural y los restantes libres de nematodos gastroentéricos (NGE), de estos últimos, dos se emplearon para reproducir a los NGE y contar con adultos de *H. contortus* para ser transferidos a otros dos corderos, uno más para verificar la infección de cultivos larvarios a partir de macerados de hembras adultas de *H. contortus*, y los restantes diez animales de raza Columbia, se emplearon para reproducir y mantener la cepa de *H. contortus*. Se logró aislar la cepa monoespecífica de *H. contortus* a partir de un caso natural de nematodiasis gastroentérica, se verificó que el mejor método para la inoculación intra-abomasal fue cuando días previos al animal se le alimentó con forraje y se aplicó bicarbonato de sodio (para incrementar el pH del abomaso), que la mejor técnica para obtención de larvas de *H. contortus* a partir de macerado de hembras adultas fue cuando se utilizaron heces de ovino estériles. Finalmente, fue posible mantener y efectuar pases de la cepa aislada en corderos de la raza Columbia libres de NGE.

INTRODUCCIÓN

La nematodiasis gastroentérica es una enfermedad multietiológica ocasionada por la acción conjunta de varios géneros y especies de parásitos, que comparten los bovinos, ovinos y caprinos y puede considerarse como un complejo parasitario causante del síndrome de mala absorción y digestión (Levine, 1978; Kimberling, 1988; Cuéllar, 1992).

Aunque la mayoría de los NGE de los rumiantes que tienen importancia económica pertenecen al Orden Strongylida, Familia *Trichostrongyloidea*, existen otros géneros que están involucrados en la nematodiasis gastroentérica. A continuación se hace referencia a los géneros y especies que afectan al aparato gastrointestinal de los ovinos y caprinos, particularmente los que están presentes en el continente americano (Levine, 1978; Soulsby, 1987; Quiroz, 1989; Meana y Rojo, 1999). Los parásitos involucrados en la nematodiasis gastroentérica de acuerdo a su localización son:

Abomaso:

Orden	Superfamilia (Familia)	Género y especie	Hospedadores
Strongylida	Trichostrongyloidea (Trichostrongylidae)	<i>Haemonchus contortus</i>	Ovinos, caprinos
		<i>Mecistocirrus digitatus</i>	Rumiantes
		<i>Teladorsagia trifurcata</i>	Ovinos, caprinos
		<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Ovinos, caprinos
		<i>Marshallagia marshalli</i>	Ovinos, caprinos
		<i>Trichostrongylus axei</i>	Rumiantes, cerdos, equinos

Intestino delgado:

Orden	Superfamilia (Familia)	Género y especie	Hospedadores
Rhabdatida	Rabditoidea (Strongyloidea)	<i>Strongyloides papillosus</i>	Rumiantes, otros
Strongylida	Trichostrongyloidea	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Ovinos, caprinos, bovinos
		<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	Ovinos, caprinos, otros
		<i>Trichostrongylus capricola</i>	Caprinos, ovinos
		<i>Nematodirus battus</i>	Ovinos
		<i>Nematodirus spathinger</i>	Ovinos
		<i>Nematodirus fillicolis</i>	Ovinos
Strongylida	Ancylostomatoidea	<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	Ovinos
		<i>Gaigeria pachyscelis</i>	Ovinos, caprinos

Ciego y colon:

Orden	Superfamilia (Familia)	Género y especies	Hospedadores	Localización
Strongylida	Strongyloidea (Trichosnemastidae)	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	Ovinos, caprinos	Colon
		<i>Oesophagostomum columbianum</i>	Ovinos, caprinos	Colon
		<i>Chabertia ovina</i>	Rumiantes	Colon
Ascaridia	Oxiuroidea (Oxyuridae)	<i>Skrjabinema ovis</i>	Ovinos, caprinos	Ciego
Enoplida	Trichuroidea (Trichuridae)	<i>Trichuris ovis</i>	Rumiantes	Ciego

De la amplia gama de nematodos gastroentéricos (NGE) que afectan a los ovinos sobresale *Haemonchus contortus* que por sus hábitos hematófagos se convierte en uno de los que tienen mayor grado de virulencia (Quiroz, 1989; Velasco, 1991).

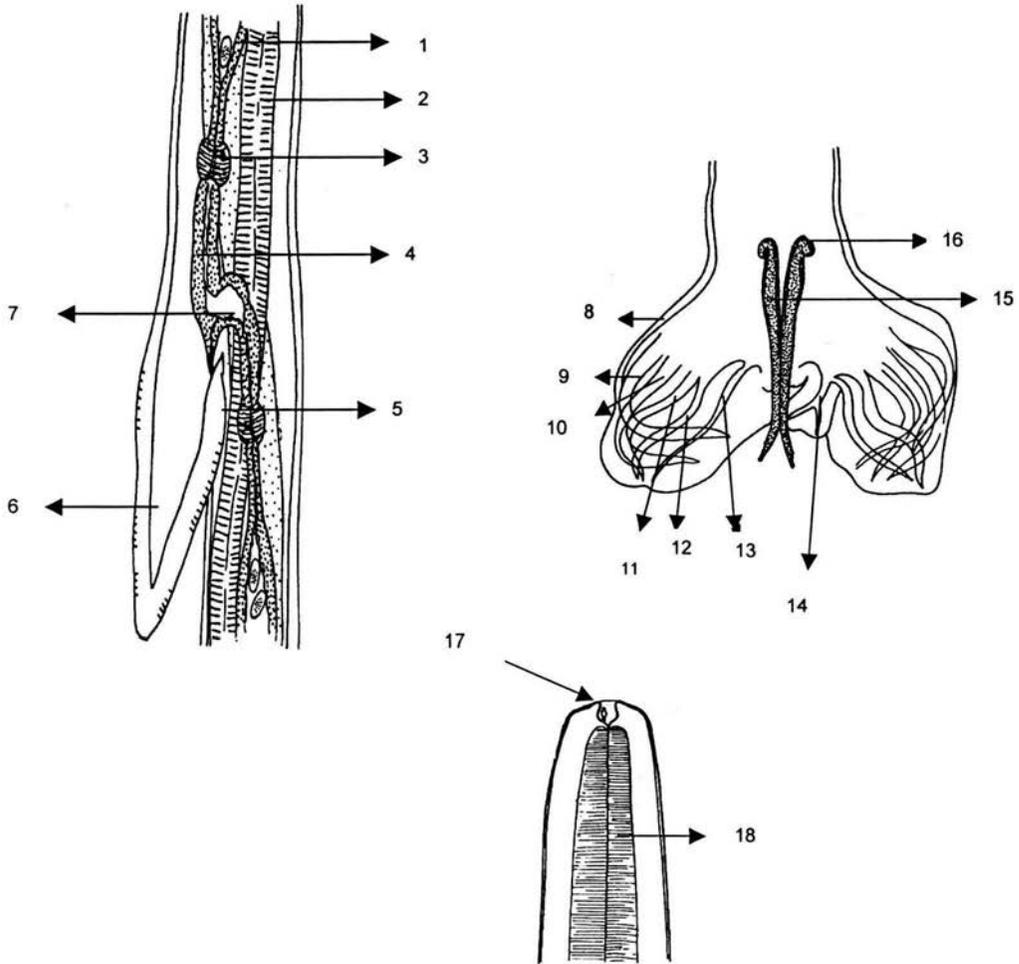
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Haemonchus contortus* (Urquhart y col., 2001):

Reino	Animal
Phylum	Nemathelminthes
Clase	Nematoda
Orden	Strongylida
Suborden	Strongylina
Superfamilia	Trichostrongyloidea
Familia	Trichostrongylidae
Subfamilia	Haemonchinae
Género	<i>Haemonchus</i>
Especie	<i>H. contortus</i>

Sinonimias: Al *H. contortus* también se le conoce como el *gran gusano del estómago*, *gusano del cuajar de los rumiantes* (Soulsby, 1987).

El *H. contortus* se localiza en el abomaso preferentemente en la región fúndica. Los machos miden 10 a 20 mm de longitud y las hembras de 18 a 30 mm. Son hematófagos y en fresco, el macho tiene un color rojizo uniforme, mientras que en la hembra, dado que los ovarios blancos están enrollados en espiral alrededor del intestino rojo, le da un aspecto rayado (Fig. 1). Las papilas cervicales son prominentes y espiniformes, hay una pequeña cavidad bucal que contiene una lanceta dorsal. La bolsa del macho tiene lóbulos laterales alargados sustentados por radios largos y finos, el pequeño lóbulo dorsal es asimétrico y está desviado hacia el lóbulo lateral izquierdo siendo sustentado por un radio dorsal en forma de Y. Las espículas miden de 0.46-0.51 μm de longitud y cada una lleva una pequeña lengüeta cerca del extremo son órganos quitinosos y estos se insertan en la abertura genital de la hembra durante la cópula. El gubernáculo, también quitinoso, es una pequeña estructura que sirve de guía para las espículas durante la cópula. La vulva de la hembra está cubierta normalmente por un proceso lingüiforme (solapa o labio vulvar), que suele ser grande y muy prominente, pero que puede aparecer reducido a una pequeña prominencia en forma de botón en algunos ejemplares (Soulsby, 1987; Urquhart y col., 2001).

Fig. 1 Aspectos morfológicos de *Haemonchus contortus*



- | | |
|-------------------------|-------------------------------------------|
| 1. Útero | 10. Radio mediolateral |
| 2. Intestino | 11. Radio externo lateral (anterolateral) |
| 3. Ovario | 12. Radio latero ventral |
| 4. Oviyectores | 13. Radio ventroventral |
| 5. Vulva | 14. Radio dorsal |
| 6. Lengüeta | 15. Gubernáculo |
| 7. Vagina | 16. Espículas |
| 8. Radio externodorsal | 17. Cápsula bucal y lanceta |
| 9. Radio posterolateral | 18. Esófago |

Fuente: Lapage (1981)

Los huevos tienen forma ovoide incoloros y de cascarron fino (Fig.2). Su tamaño oscila entre los 70 y 100 μm de longitud por 40 a 60 μm de ancho, con 16 a 32 blastómeros (Lapage, 1981; Meana y Rojo, 1999).

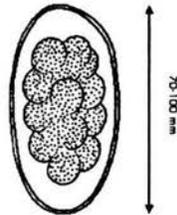


Fig. 2 Huevo de *Haemonchus contortus*

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *H. contortus* es directo (Fig. 3), se divide en una fase no parásita fuera del hospedador y otra fase parásita en su interior (Lapage, 1981; Meana y Rojo, 1999).

Los animales parasitados eliminan con sus heces huevos con un número variable de blastómeros (Lapage, 1981; Meana y Rojo, 1999). Se requiere de humedad, temperatura y oxígeno para el desarrollo de las larvas (del primer estadio) dentro del huevo (Quiroz, 1989).

Fase no parásita:

El huevo que se está segmentando cuando sale del hospedador, se desarrolla una primera larva (L_1), que sale y se alimenta de bacterias de sus alrededores, al completar su crecimiento, muda su epidermis (primera ecdisis) y se transforma en larva 2 (L_2) que también se alimentan de bacterias y crece hasta que madura, también muda su epidermis (segunda ecdisis) y se transforma en larva de tercer estadio (L_3) que es la larva infestante (Lapage, 1981; Meana y Rojo, 1999), en esta segunda ecdisis la epidermis no se desecha, permanece como una envoltura suelta alrededor de la L_3 y por lo tanto no puede alimentarse. Se mantiene de los gránulos de material alimenticio que ha sido almacenado dentro de las células que recubren su intestino. Esta envoltura protege a la larva de la desecación y otros factores ambientales de los cuales se encuentra expuestas fuera del hospedador y puede resistir así condiciones desfavorables sobre los pastos durante periodos variables,

en esto difiere la L₁ y L₂, gran número de las cuales pueden resultar destruidas por la sequía y otros factores lesivos (Lapage, 1981; Urquhart y col., 2001).

Migración larvaria:

Algunos factores físicos favorecen la dispersión horizontal de las larvas tales como el viento, la lluvia, el mismo ganado con las patas e insectos, lombrices y ácaros coprófagos (escarabajos peloteros como transportadores de las fases libres), por movimiento de la materia fecal; se ha observado que las esporas del hongo del género *Pilobolus* también ayuda a la dispersión de las larvas (Quiroz, 1989). Asimismo, el humano contribuye a esa diseminación al utilizar las excretas de animales infestados como abonos naturales para las praderas (Meana y Rojo, 1999).

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. Los mecanismos que facilitan esta migración larvaria son: un hidrotropismo positivo, un geotropismo negativo y un fototropismo a la luz tenue y negativo a la luz intensa (Soulsby, 1987).

Fase parásita:

La infección de los animales se realiza por la ingestión de la L₃ que se encuentra en los pastos y forrajes. Tras la ingestión, a los 30 minutos aproximadamente, las larvas pierden la vaina en el rumen de los animales (Soulsby, 1987; Quiroz, 1989). La liberación de la larva depende de dos factores, uno de ellos proporcionado por el hospedador (amortiguador bicarbonato HCO₂ y el CO₂ gaseoso del rumen) (Meana y Rojo, 1999), que se encuentra en el rumen, y este factor activa a la larva en tal forma que ella produce el segundo factor que se llama "líquido liberador" (Lapage, 1981). En condiciones ambientales adecuadas los huevos eclosionan en 24 horas y el desarrollo de huevo a larva infestante se alcanza entre 4 a 6 días (Soulsby, 1981; Kimberling, 1988). El ciclo biológico completo comprendiendo las dos fases tiene una duración de 3 a 4 semanas (Meana y Rojo, 1999; Urquhart y col., 2001).

Una vez que la larva infestante se ha liberado, pasa hacia el abomaso y entra en una fase de su ciclo biológico llamado fase tisular o histotrófica, la L₃ penetra a la foseta de la glándula gástrica (Lapage, 1981; Soulsby, 1987). Ahí se alimenta y crece en la mucosa, preferentemente en la mucosa fúndica, o después que abandona ésta para vivir en la cavidad del abomaso, una vez en la mucosa las larvas mudan otra vez y pasan a L₄ en el interior de las glándulas (Meana y Rojo, 1999), posteriormente salen y mudan una vez más para transformarse en L₅, esta larva se desarrolla directamente sin ecdisis hasta gusano adulto en un periodo de 15 a 21

días, tras la cópula de las hembras, éstas empiezan a poner huevos (Lapage, 1981; Soulsby, 1987; Meana y Rojo, 1999).

Las L₄ de los NGE pueden reducir su desarrollo (hipobiosis) o *larvas arrestadas* en la submucosa abomasal, que sirve a los parásitos para asegurar su supervivencia cuando las condiciones ambientales no son propicias para su desarrollo; los factores que contribuyen a la inhibición del desarrollo de las larvas son de tipo ambientales (clima frío o muy seco), acúmulo considerable de parásitos presentes y la inmunidad a los parásitos (Cuéllar, 1986; Meana y Rojo, 1999).

La eliminación de huevos es variable y depende del hospedador (edad, estado inmunitario) y de la prolificidad de las hembras parásitas, edad de los parásitos, relación machos: hembras siendo entre 5,000 a 10,000 huevos al día (Levine, 1978; Smith y Sherman, 1994; Meana y Rojo, 1999). La longevidad de los adultos se calcula que es de 6 a 12 meses y el tiempo de la máxima eliminación de huevos es de 4 a 6 meses (Borchert, 1975).

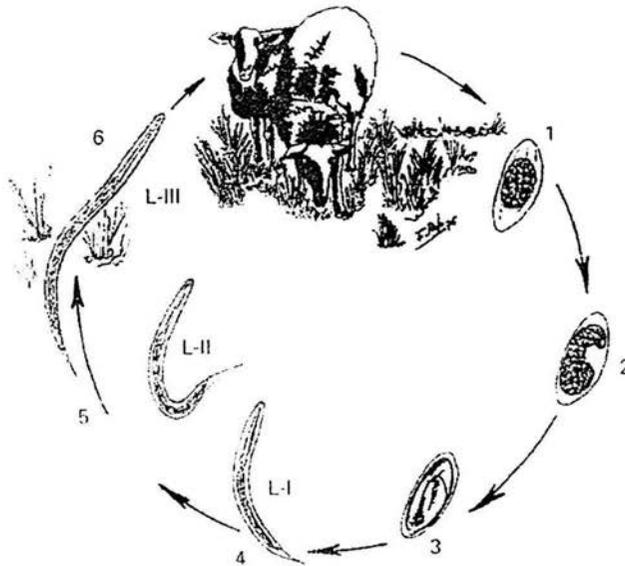


Fig. 3 Ciclo biológico de *Haemonchus contortus*

1, 2 y 3 desarrollo del huevo

4, 5 y 6 eclosión de L-I y desarrollo hasta L-III (Fase infectante) junto con sus dos mudas

Fuente: Meana y Rojo (1999)

EPIDEMIOLOGÍA

La distribución de *H. contortus* es mundial, tiene su mayor importancia en aquellas áreas tropicales y subtropicales, se presenta cuando existen las condiciones ambientales adecuadas como temperatura, humedad, por lo tanto, es más frecuente en la época de lluvias. La enfermedad se presenta en ovinos en pastoreo los cuales ingieren las larvas L₃ localizadas en los forrajes o en aguas estancadas como charcos y lagunas. Es frecuente el problema cuando los animales están pastoreando en praderas irrigadas comunales o junto con otros ovinos infestados (Urquhar y col, 2001).

La temperatura afecta las actividades de los NGE como es la oviposición, reproducción, movimiento, desarrollo y supervivencia.

A todos aquellos estadios que se encuentran fuera del animal (huevo, L₁, L₂ y L₃), se les conoce como población en refugio, los cuales se encuentran fuera del alcance del tratamiento convencional con antihelmínticos. Esas fases sufren un proceso llamado traslación que se refiere a los factores que afectan el desarrollo, diseminación y disponibilidad de larvas en la pastura (Armour, 1980).

Las bajas temperaturas retardan el desarrollo y favorece una alta mortalidad de larvas. Así, por ejemplo, las temperaturas menores de 9° C logran detener la fase exógeno del parásito, las temperaturas críticas son de 12° C cuando la temperatura aumenta, se acelera el desarrollo larvario alcanzando su máximo entre 26° y 27° C después de esta temperatura se presenta una elevada mortandad de las larvas (Cuéllar, 1986; Nansen, 1987, citado por Liébano y col., 1998; Meana y Rojo, 1999).

El otro factor importante es la humedad, existe desarrollo cuando hay entre el 70 y 100% de humedad relativa, pero generalmente se requiere un mínimo de 96% (Meana y Rojo, 1999). El tamaño de los pastos esencial en el hábitat de las larvas, ya que conserva mayor cantidad de humedad en éstos; de esta manera proporciona mayores condiciones de sobrevivencia, lo anterior indica que en pastos con buen crecimiento hay hasta 90% de humedad, aún después de tres semanas de desecación (Dunn, 1983).

Otro aspecto importante, una vez formadas las L₃ en el interior de las heces, es su migración hacia la hierba. Esa se produce si hay suficiente intensidad de luz junto con la humedad, por lo tanto, el número máximo de larvas se encuentra en la hierba en las primeras horas de la mañana y al final de la tarde, cuando la temperatura e intensidad lumínica son favorables (Meana y Rojo, 1999).

Un factor importante en la sobrevivencia de las larvas lo constituye el microclima inmediato y es el que se registra por encima del suelo a 1.6 m de altura en donde viven las plantas y los animales (Rosenberg, 1974, citado por Liéban y col., 1998). A ese nivel también se encuentra el nanoclima que es el que se registra en los primeros centímetros a nivel del suelo y por debajo del suelo, ya que en este nivel se encuentra el hábitat de las fases juveniles de *H. contortus* (Levine, 1980, citado por Liéban y col., 1998).

La consistencia del suelo son factores importantes para el desarrollo de las larvas; en los suelos arenosos las larvas pueden moverse y penetrar con mas facilidad que en los suelos arcillosos para protegerse de las condiciones adversas del medio por lo que el suelo arenoso es favorable a las L₃ para sobrevivir (Levine, 1978; Quiroz, 1984).

Es posible que la haemoncosis se presente en animales mantenidos en confinamiento total debido al consumo de forrajes frescos recién cortados contaminados con L₃; asimismo, al consumir agua contaminada y forrajes contaminados con excremento de animales parasitados o al consumir material de las camas (Borchert, 1975).

El pastoreo mixto de borregos de diferentes edades favorece la infección de los corderos con parásitos provenientes de los animales adultos (Levine, 1978; Dunn, 1983).

Otro factor ambiental es el sobrepastoreo, que permite un incremento en la población parasitaria del piso y mayores probabilidades de infección al existir un mayor número de larvas (Cuéllar, 1986; Solulsby, 1987).

En cuanto a los factores relacionados con el hospedador, los corderos jóvenes menores a seis meses son en general más susceptibles a las enfermedades parasitarias que los ovinos adultos, este fenómeno es llamado no respuesta o hiporrespuesta (Weis y col., 1986, citado por Schallig, 2000). El sistema inmune progresa a través de un proceso de maduración que inicia durante la vida fetal y continúa durante los primeros 12 meses de vida (Watson y Gill, 1991, citado por Schallig, 2000).

Las borregas contribuyen a la infección de las pasturas durante el último tercio de la gestación y la lactancia, fenómeno denominado aumento periparto. Existe la evidencia que indica que es el resultado de una ruptura inmunitaria temporal que puede estar relacionada con los cambios endocrinos, fenómeno denominado *alza posparto* (Meana y Rojo, 1999).

La enfermedad es más frecuente en los ovinos que en caprinos. Esta diferencia esta basada en los hábitos alimenticios de estas especies ya que se ha sabido que los ovinos pastorean selectivamente al ras del suelo y los caprinos ramonean en arbustos en donde es muy difícil que se encuentre la larva infestante (Cuéllar, 1986).

Los ovinos o caprinos *criollos* o *nativos* son considerados más resistentes de adquirir la enfermedad en relación con los animales exóticos, esto se explica por que los primeros han tenido con el paso del tiempo una selección natural sobreviviendo los animales más resistentes a los parásitos gastrointestinales de la región (Cuéllar, 1986).

La disminución en la calidad de la dieta, así como animales desnutridos serán más susceptibles de adquirir la parasitosis ya que su nivel inmunológico se encuentra deprimido (Cuéllar, 1986; Quiroz, 1989; Blood y Radostits, 1992; Torres, 2000).

PATOGENIA

El *H. contortus* localizado en el abomaso produce afectaciones en las glándulas parasitadas, después de la penetración y crecimiento de las larvas en las glándulas gástricas. Las células parietales productoras de ácido clorhídrico (HCl) y las cimógenas productoras de pepsinógeno son remplazadas por células no diferenciadas (Fox, 1997; Simpson y col., 1997; Meana y Rojo, 1999; Cuellar y col., 2003).

La salida del parásito produce lisis de las células de las glándulas estimulando la rápida división celular y origina una marcada hiperplasia con engrosamiento de la mucosa y aumento de células plasmáticas. En la infección por *H. contortus* los daños más graves se producen una vez que las larvas han emergido de las glándulas y se debe a la hematofagia. Se ha observado que a los 30 minutos siguientes a la infección produce un aumento del diferencial del potencial transmural (DPT) incrementando la concentración de iones Carbonato (HCO_3), que contribuye al incremento de pH gástrico dando lugar a la disminución en la producción de HCl y aumentando el pH gástrico llegando incluso a valores superiores a 7 para el caso de *O. ostertagi* y *T. circumcincta* (Meana y Rojo, 1999). El pH adecuado para una mejor viabilidad de 4.5 a más en el caso de *H. contortus* (Simpson, 1997). El pH normal del abomaso de los ovinos oscila en el transcurso del día entre 2 y 3 (Güertler y col., 1987).

El aumento de pH repercute negativamente en la digestión protéica por que el pepsinógeno no se transforma en pepsina y las proteínas no pueden ser desdobladas ocasionando también un aumento de pepsinógeno plasmático

(Simpson y col., 1997; Meana y Rojo, 1999). La acción óptima proteolítica de la pepsina es con un pH de 1.3 (Levine, 1978; Gürtler y col., 1987; Frandson y Spurgeon, 1995).

También aumenta la síntesis de gastrina, que lleva aparejado a un aumento de la contractilidad del abomaso y el peristaltismo intestinal (Meana y Rojo, 1999).

La acción tóxica es generada por las sustancias anticoagulantes que infiltran en los tejidos para succionar sangre alrededor de las úlceras que provoca (Quiroz, 1989). Se ha detectado la actividad enzimática que degradan una gran cantidad de proteínas naturales (fibrinógeno, hemoglobina, plasminógeno y albúmina). No se conocen las características bioquímicas y funciones específicas, se cree que el papel de la hemoglobinasa descrita en los macerados de *H. contortus* tienen que ver con la nutrición del parásito (Cuéllar, 2003).

Las L₄ y L₅ succionan sangre ocasionando lesiones hemorrágicas en la mucosa del abomaso, además los gusanos adultos irritan la mucosa del abomaso provocando una inflamación (gastritis catarral), (Lapage, 1981; Dunn, 1983).

La acción expoliatrix de los gusanos adultos es hematófaga y se calcula que el consumo de sangre es de 0.05 ml por gusano al día (Quiroz, 1989; Urquhart y col., 2001).

SIGNOS CLÍNICOS

Los signos del cuadro clínico de las nematodiasis gastroentérica varían según la especie de nematodos presentes en la infección y el estado nutricional del animal. Se debe considerar que en la mayoría de los casos la presencia de parásitos pasa inadvertida por la ausencia de signos clínicos (parasitosis subclínica), siendo el mejor momento para el control antiparasitario (Cuéllar, 1986).

La presencia de nematodos en el aparato gastrointestinal de los ovinos hace que se alteren las funciones de digestión y absorción de nutrientes, lo que se traduce en un cuadro de desnutrición de gravedad variable, que incluso puede terminar con la vida del animal parasitado. Este hecho es mucho más crítico en los animales jóvenes dado que al estar en crecimiento, sus requerimientos nutricionales son mayores (Kimberling, 1988; Coop y Jackson, 2000).

En los animales jóvenes, se observa baja de peso, pérdida de la lana o pelo, anorexia, mucosas y conjuntivas pálidas y apatía, también puede haber diarreas intermitentes y edema submaxilar (Cuéllar, 1986).

Cuando estas enfermedades parasitarias se deben a la presencia de nematodos pertenecientes a los géneros *Haemonchus* u *Teladorsagia*, que se localizan en la pared del abomaso, los signos más aparentes son mucosas pálidas, debilidad general, enflaquecimiento indicativo de anemia ferroporiva, por ser parásitos hematófagos (Coop y Jackson, 2000).

Los nematodos adultos de *Trichostrongylus* y *Teladorsagia* no se alimentan a expensas del contenido intestinal, sino que ingieren con su pequeña cápsula bucal, contenidos variables de células epiteliales y que pueden lesionar vasos sanguíneos con la siguiente pérdida de sangre. Tanto las larvas 4, como los adultos de *Haemonchus contortus* son hematófagos y al ingerir grandes cantidades de líquido corporal del hospedador (el promedio ingerido por parásito es 0.05 ml por día) produce pérdida de componentes sanguíneos, incluyendo eritrocitos y proteínas plasmáticas lo cual puede ocasionar anemias e hipoproteïnemia (Kimberling, 1988).

Los corderos jóvenes infestados por *H. contortus* suelen estar afectados por la forma sobreaguda de la enfermedad y se les encuentra con frecuencia muertos sin que se haya observado signo alguno. A la necropsia se observa inflamación catarral en abomaso o intestino, ulceración y nódulos en pared intestinal o abomasal; a veces hay hemorragia en el sitio de fijación del parásito (Kimberling, 1988).

LESIONES

Se observan diferentes grados de ulceración en la mucosa del abomaso, así como hiperemia e inflamación, se muestran coágulos en los puntos donde los gusanos han succionado sangre (Lapage, 1981; Coop y Jackson, 2000).

El contenido gástrico es de color pardo rojizo y la presencia de los gusanos en la mucosa gástrica. Además hay deshidratación, anemia, diarrea, mucosas pálidas, sangre acuosa, hidrotórax, ascitis, hidropericardio (Meana y Rojo, 1999). Es común encontrar degeneración grasa del hígado encontrándose de color pardo y quebradizo, vísceras extremadamente pálidas (Lapage, 1981).

RESPUESTA INMUNOLÓGICA

La combinación de antígenos de helmintos con IgE fijada sobre las células cebadas tienen como resultado la de granulación de dichas células con liberación de enzimas vasomotoras, estos compuestos estimulan la contracción del músculo liso y aumenta la permeabilidad vascular, por lo tanto, en la reacción de autocura se observan reacciones violentas de la musculatura intestinal con aumento de la permeabilidad de los capilares locales lo que permite la salida del líquido a la luz

del intestino, este fenómeno tiene como resultado el desalojo de los gusanos implantados en la mucosa digestiva del animal (Tizar, 1998).

Las IgE desempeñan otros papeles en la disminución de la población de helmintos en los animales, por ejemplo, los macrófagos pueden fijarse en las larvas de los helmintos a través de un mecanismo que depende de la IgE hasta llegar a destruirlas, además estimula la liberación del factor quimiotáctico de anafilaxia (FQE-A) para utilizar los eosinófilos; éstos contienen enzimas capaces de neutralizar los agentes vasomotores liberados por las células cebadas, junto con anticuerpos y el complemento (Tizar, 1998).

Según Schallig (2000), los anticuerpos antiparasitarios contribuyen a la resistencia por neutralización o inactivación de enzimas metabólicas vitales de *H. contortus*. Se ha observado una correlación negativa entre la magnitud de respuesta de IgA de la linfa gástrica y sugiere que los anticuerpos IgA pueden interferir en la habilidad del parásito para alimentarse. Está demostrada la habilidad de la IgA secretada que induce la de granulación de eosinófilos. La ligadura del complejo inmune IgA/antígeno a las células inflamatorias en la mucosa y la subsecuente liberación de citocinas y mediadores inflamatorios. Y las propiedades citofílicas de la IgG₁ para las células cebadas.

Los eosinófilos se unen a los helmintos por medio de la IgE y luego se degranulan liberando el contenido de sus gránulos sobre la cutícula del helminto, la proteína básica principal de los gránulos pueden lesionar directamente la cutícula y también favorecer la adherencia de más eosinófilos, esta acción citotóxica aumenta en presencia de la histamina y el complemento (Tizar, 1998).

Por otro lado, es bien conocido que los linfocitos juegan un papel importante en la generación de la respuesta inmune contra los helmintos. Los ovinos que tienen repetidas infecciones o son inmunizados contra *H. contortus* generalmente tienen linfocitos que responden a la proliferación *in vitro* a los antígenos del parásito. Además se ha demostrado que los linfocitos de cordero siempre de animales totalmente libres de *H. contortus*, proliferaron en respuesta a los antígenos solubles de L₃. Se sugiere que tales linfocitos pueden ser importantes en la resistencia innata de los ovinos a ese parásito, de esta manera, ovinos libres de parásitos que tienen una gran cantidad de linfocitos que responden a antígenos que inducen respuesta, tienen una menor susceptibilidad a la infección experimental (Schallig, 2000).

DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de la nematodiasis gastrointestinal se deben considerar los antecedentes sanitarios y el manejo del rebaño, Aun que algunos signos clínicos

son sugestivos de este problema se debe comprobar la enfermedad mandando muestras de excremento al laboratorio colectado del recto de los animales para examinarlos y detectar huevos eliminados por los parásitos. Esto se hace de forma cuantitativa mediante la técnica de Mc. Master y cualitativamente mediante cultivos larvarios (Cuéllar, 1986; Quiroz, 1989).

El diagnóstico diferencial debe realizarse con la fasciolosis, coccidiosis, cestodosis (monieziosis), enfermedades bacterianas (paratuberculosis, linfadenitis caseosa), malnutrición, problemas de dentición (Quiroz, 1989).

TRATAMIENTO

Los fármacos que se utilizan actualmente, pertenecen a los siguientes grupos: (Smith y Serman, 1994; Meana y Rojo, 1999):

Grupo	Principio activo	Dosis mg/kg	Vía de administración
Benzimidazoles	Tiabendazol	44.0	Oral
	Albendazol	5.0	Oral
	Fenbendazol	5.0	Oral
	Oxfendazol	5.0	Oral
Probenzimidazoles	Febantel	6.0	Oral
	Tiofanato	50.0	Oral
	Netobimín	7.5	Oral
Imidazotiazoles	Levamisol	7.5	Subcutánea
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina	0.2	Subcutánea
	Moxidectina	0.2	Subcutánea
	Doramectina	0.2	Subcutánea
Salicilanilidas	Closantel	7.5	Subcutánea

CONTROL

El uso inadecuado de antihelmínticos por largos periodos como única medida de control ha favorecido la aparición de cepas de *H. contortus* resistente a esas drogas, por lo tanto, otras opciones de control deben considerarse.

Para el control de *H. contortus* deben conocerse algunos aspectos de la región, tales como la distribución de las lluvias, tipo de explotación intensiva y/o extensiva; en el caso de la extensiva conocer el tipo de propiedad de la tierra (comunal, o propiedad), especies que pastorean a sí como su edad, el tipo de parásito más común en el área y la disponibilidad de mano de obra (Torres, 2000).

El control se basa en dos principios (Torres, 2000):

1. Romper el ciclo biológico del parásito mediante el uso de antihelmínticos, manejo de praderas, control biológico e higiene de las instalaciones.
2. Favorecer la respuesta inmune de los animales, mediante vacunas, selección genética (animales resistentes) y mejoramiento nutricional de la dieta.

El control integral contempla el empleo en conjunto de las estrategias de esos dos principios:

a) Manejo de praderas: previene la ingesta de pasturas contaminadas y existen diversas variables:

Pastos libres: son aquellos que no han sido pastoreados por periodos largos (varios meses), forrajes ensilados, henificados, pastos de corte no abonados y pastos donde se realiza la labranza (surcado, arado, barbechado, quema).

Pastoreo alterno: en este tipo de pastoreo se obtienen pasturas seguras alternando animales de distintas especies (bovinos, equinos, ovinos) o distintas categorías dentro de una misma especie con la finalidad de reducir la carga de larvas del forraje.

Pastoreo rotativo: en este sistema los animales no ocupan siempre toda el área de pastoreo, si no que en momentos determinados existen áreas que se mantienen libres de pastoreo, el tiempo de pastoreo y descanso son variable y en general se ajustan a la disponibilidad y calidad del forraje. Los periodos de descanso deben ser suficientemente largos para hacer declinar dramáticamente los niveles de contaminación larval, siendo de aproximadamente 90 días de descanso en lugares con clima templado y de 30 a 40 días en lugares con clima tropical.

Horario de pastoreo: se recomienda sacar a los animales a pastorear después de que los rayos solares han secado las gotas de rocío, donde las L₃ infestantes se han concentrado durante las primeras horas de la mañana (Aumont y col., 1991 citado por Morales y Pino, 2003).

b) Manejo de los animales: Destinado a incrementar la resistencia, tolerancia o resiliencia natural de los parásitos del rebaño, a través de selección genética, vacunas, mejoramiento nutricional y mejoramiento del estado fisiológico del animal.

Los conceptos relacionados con lo anterior son:

Resistencia: habilidad del animal de resistir la infección parasitaria, a través de un fuerte comportamiento inmunológico disminuyendo el desarrollo de L₃ infectivas a L₄, reduciendo el pasaje de L₄ a adultos, eliminando adultos y disminuyendo el nivel de postura de las hembras.

Resiliencia: habilidad del animal de mantener niveles productivos aceptables a pesar de la influencia parasitaria.

Tolerancia: habilidad de mantener niveles productivos aceptables, pero sin la intervención del sistema inmunológico (Castells, 2003).

Manejo nutricional: La buena nutrición incrementa la resistencia de los ovinos contra la infección de *H. contortus*. La suplementación con proteína ha demostrado mayor capacidad para controlar los efectos tales como anemia e hipoproteïnemia (Torres, 2000). Trabajos realizados con diferentes niveles de proteína dietética en corderos han demostrado mayor capacidad para controlar la producción de huevos en corderos con mayor cantidad de proteína que en corderos con dietas no suplementadas o con bajo nivel de proteína ya que se ha desarrollado más rápidamente una respuesta inmune, pero sin influir en la velocidad de desarrollo larval (Wallace y col., 1996; Theodoropoulos y col., 1998; Morales y Pino, 2003).

Selección genética: Los beneficios de la selección genética para la resistencia a NGE se basan en la crianza de animales que tengan menos NGE, lo que resulta en menor impacto negativo sobre la producción, requerirán menos desparasitantes para su control y mantendrán praderas más limpias. Es necesario identificar y explorar la variación genética existente en el ovino Pelibuey considerando que la heredabilidad de la respuesta contra NGE varía de 0.2 a 0.4. Los criadores de ovinos deben introducir la cuenta de huevos por gramo de heces como indicador más útil de resistencia e incluirlo en sus índices de selección (Torres, 2000).

c) Control biológico: Las fases libres de NGE de los rumiantes tienen más de 200 especies de hongos capaces de utilizar los estados larvarios de los parásitos como fuentes nutritivas, estos hongos deben ser capaces de atravesar el tracto digestivo de los animales, sin ser destruidas, germinar, crecer, atrapar y destruir las larvas de

NGE en las heces entre estos hongos están *Duddingtonia flagrans* y *Arthrobotrys oligospora* (Saumell y Fernández, 2000; Torres, 2000).

d) Métodos tradicionales: se ha considerado que el epazote al igual que otras plantas nativas poseen sustancias con actividad nematocidas (Torres, 2000), sin embargo, existen pocas evidencias científicas que demuestren su eficacia antiparasitaria, lo que obliga a efectuar las validaciones correspondientes para su recomendación.

PREVENCIÓN

No existe todavía una vacuna en el mercado contra *H. contortus*, se han realizado trabajos en la elaboración de una vacuna con antígenos ocultos para inmunizar ovinos. El antígeno usado es una proteína de la membrana intestinal de *H. contortus* el cual se ha encontrado que es altamente protectoro contra este parásito, se ha comprobado que las inmunoglobulinas protectoras se adhieren al intestino del gusano que ha succionado sangre del hospedador. En los ovinos inmunizados se suprimió la producción de huevos y los gusanos hembras adultos fueron más rápidamente eliminados que los machos debido a que las hembras consumen mayor cantidad de sangre y por ende mayor cantidad de anticuerpos, los ovinos inmunizados mostraron mayor ganancia de peso que en los ovinos del grupo no inmunizado (Smith y Smith, 1993).

OBJETIVOS

Aislar una cepa de *Haemonchus contortus* de origen ovino a partir de un caso comprobado de nematodiasis gastroentérica aguda.

Evaluar la mejor técnica para la obtención de una cepa monoespecífica de *H. contortus* en ovinos

Mantener a través de pasos sucesivos una cepa monoespecífica de *H. contortus* de origen ovino

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización

El trabajo se realizó en el Módulo de Posgrado ubicado en las instalaciones del Centro de Enseñanza Agropecuaria y el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Animales

Se utilizaron 16 ovinos (6 de raza indefinida y 10 de la raza Columbia) de cuatro a seis meses de edad libres de nematodos gastroentéricos (NGE) para el desarrollo del trabajo.

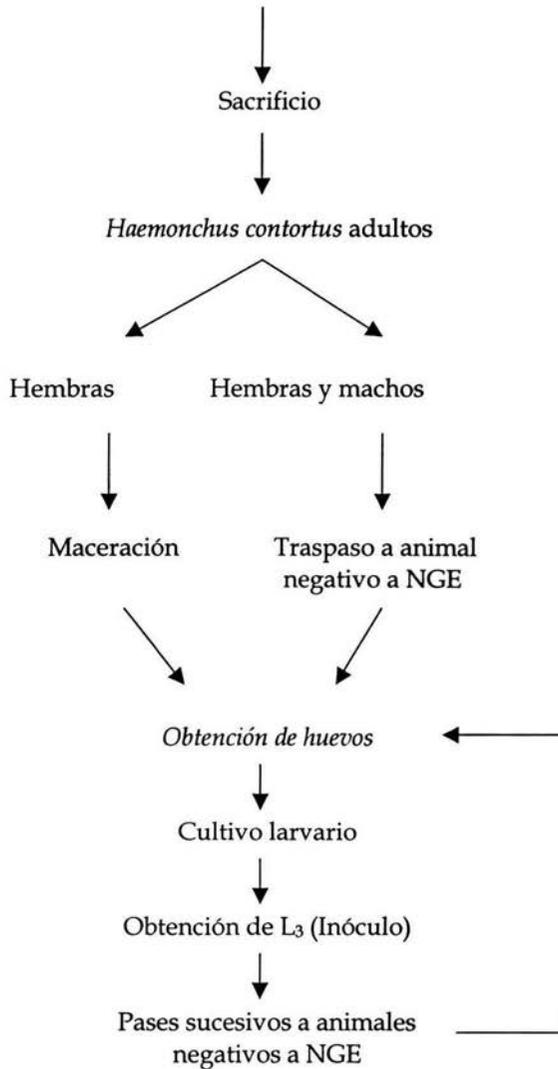
Todos los animales se mantuvieron en confinamiento total, ya sea en una jaula metabólica o en una corraleta con piso de cemento. La alimentación era sólida y consistía en forraje molido (mezcla de rastrojo de maíz y alfalfa) y alimento balanceado comercial (15% PC). El agua se proporcionó *ad libitum* por medio de bebederos automáticos de pivote.

Diseño experimental

Para cumplir con los objetivos del presente trabajo se llevará a cabo el siguiente esquema (Fig. 4):

Fig. 4 Obtención de la cepa mono-específica de *Haemonchus contortus*

Animal positivo a NGE (Mc Master y cultivo larvario)



Los 16 animales utilizados en el presente trabajo fueron:

- Un ovino con infección natural por NGE proveniente de Jilotepec, México.
- Dos ovinos libres de NGE que recibieron 10,000 L₃ de NGE.
- Dos corderos que recibieron intra-abomasalmente *H. contortus*. Uno de ellos recibió una alimentación consistente en una mezcla 20% y 80% de forraje molido y alimento balanceado comercial en forma de harina (15% PC) respectivamente. En el otro cordero, y con la finalidad de lograr un pH abomasal menos ácido, la alimentación fue a base de 80% de forraje molido y 20% de alimento balanceado (15% PC), además se le administraron dos días antes de la cirugía, 5 ml de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) por vía subcutánea.
- Un ovino libre de NGE que recibió 3,000 L₃ de *H. contortus* provenientes de un cultivo de macerado de hembras adultas del parásito.
- Diez corderos de la raza Columbia que recibieron 10,000 L₃ de *H. contortus* para comprobar la viabilidad y pureza de la cepa aislada.

Detección de un caso de nematodiasis gastroentérica natural, obtención de larvas y aislamiento de las fases adultas.

Se muestreo un rebaño naturalmente infectado con NGE localizado en Jilotepec, Estado de México. De las muestras positivas a NGE se eligió al ovino con más de 1,000 huevos por gramo de heces (hgh).

A ese animal se le colocó un calzón de lona para coleccionar la mayor cantidad de heces.

Se realizaron cultivos larvarios en cajas de petri humedeciendo el excremento, se incubó a 27° C durante siete días, cada tercer día se revisó para verificar la humedad y temperatura.

Se colectó la mayor cantidad de larvas y constatada la presencia de larvas 3 (L₃) de *H. contortus*, se realizaron dos inóculos con 10,000 L₃ de NGE.

Inoculación con L₃ de NGE en corderos libres de NGE.

Cada inóculo de 10,000 L₃ de NGE fue administrado a dos ovinos libres de NGE a través de una sonda buco-esofágica.

Después de inoculados los ovinos se les tomaron muestras de excremento cada tercer día para constatar la presencia de parásitos adultos mediante la detección de huevos fecales, hasta que alcanzó la mayor eliminación de huevos fecales, posteriormente se sacrificaron por medio de insensibilización con pistola de embolo oculto, para extraer, identificar y separar todas las fases adultas de *H. contortus*.

Inoculación intra-abomasal de las fases adultas de *Haemonchus contortus*.

A dos ovinos libres de NGE se les trasplantaron directamente en el abomaso entre 150 a 200 hembras y machos adultos de *H. contortus* mediante abomasotomía.

Técnica de abomasotomía

A los dos corderos empleados se les mantuvo en ayuno durante 24 horas.

La técnica utilizada fue laparotomía media antero umbilical, región hipocondrial. Los animales se tranquilizaron con clorhidrato de xilacina a dosis de 0.1-0.3 mg/kg de peso vivo vía endovenosa, se colocó al animal en posición decúbito dorsal.

La antisepsia de la región abdominal de lado a lado y de la región torácica inferior. Se le practicó una incisión en la línea media a 1 cm atrás del borde de la apófisis xifoidea y terminó a medio cm antes de la cicatriz umbilical, abarcando piel, tejido celular, músculo cutáneo, aponeurosis y vaina del músculo recto abdominal.

Se hizo hemostasis de arterias y venas hipogástricas hasta llegar a peritoneo, el cual se incidió protegiendo las vísceras. Se usaron compresas húmedas con solución salina isotónica tibia en los bordes de la herida; después se colocaron los separadores de Gosset para exponer el abomaso el cual se tomó con una gasa y se realizó una incisión de 10 cm. de long.

Con una tira reactiva se tomó lectura del pH del contenido abomasal y se colocaron los parásitos (hembras y machos adultos de *H. contortus*) sobre la mucosa abomasal.

Se reconstruyeron los planos utilizando para el abomaso la sutura de Cushing y Connell peritoneo con puntos continuos y músculo con puntos en X; para esto se utilizó déxon del número 2.

Manejo posoperatorio

A los animales que se les practicó la cirugía, se les aplicó enrofloxacin al 5% a dosis de 5 mg/kg de peso vivo durante cinco días.

Diariamente se le aplicó tintura de yodo como antiséptico local durante 10 días.

Evaluación de la infección por inoculación intra-abomasal de fases adultas de *Haemonchus contortus*.

A partir del día siguiente a la cirugía se colectó materia fecal y se realizaron exámenes coproparasitoscópicos durante 30 días cada cinco días para constatar la presencia de *H. contortus* y la cantidad de huevos (hgh).

Una vez confirmada la presencia del parásito se colectaron muestras de excremento de los corderos inoculados intra-abomasalmente para realizar los cultivos larvarios y obtener así la cepa de *H. contortus*.

Pases sucesivos de *Haemonchus contortus* a animales libres de NGE.

De los cultivos larvarios de *H. contortus* obtenidos de los corderos receptores de adultos por vía abomasal, se elaboraron inóculos de L₃ y se administraron por vía buco-esofágica 1,000 L₃ cada semana durante seis semanas a 10 corderos de raza Columbia libres de NGE.

Se realizaron muestreos de heces cada cinco días para verificar el éxito de la infección y coleccionar la mayor cantidad de materia fecal cuando los conteos de huevos de *H. contortus* llegaran al máximo para las futuras infecciones y así mantener la cepa aislada.

RESULTADOS

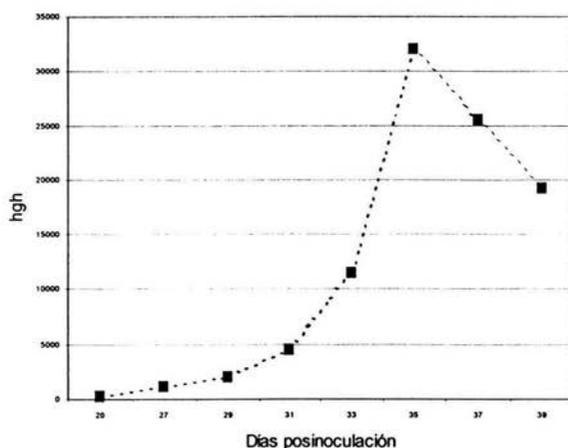
El presente trabajo se inició con la detección de un caso de nematodiasis gastroentérica natural de un ovino con un conteo de 9,350 huevos por gramo de heces, diagnosticado por medio de la técnica de Mc Master. A través del cultivo larvario se detectó la presencia de *Haemonchus contortus* (75%), *Trichostrongylus* sp. (10%), *Cooperia* (12%) y *Teladorsagia* (3%).

El animal pertenecía a una explotación ovina particular de Jilotepec, Estado de México, presentaba un cuadro clínico evidente de la parasitosis con baja condición corporal, edema submandibular, palidez de la mucosa conjuntival y debilidad.

De ese ovino, se colectaron aproximadamente 500 g de materia fecal y se cultivaron para la obtención de las larvas de tercer estadio (L₃) para elaborar los inóculos.

Después de la inoculación de 10,000 L₃ en uno de los corderos se detectó la presencia de huevos a los 20 días posinoculación, iniciando con una eliminación de 250 hgh respectivamente (Fig. 5). Esa cifra fue incrementándose progresivamente hasta alcanzar su máximo a los 35 días posinoculación con 32,100 hgh, descendiendo a 19,300 hgh cuatro días después, en este momento se procedió al sacrificio del animal para la obtención de las fases adultas de *H. contortus*. El otro animal murió a los 15 días posinoculación con un cuadro de anemia severa con palidez de mucosas, debilidad y diarrea. A la necropsia se encontraron abundantes fases inmaduras de *H. contortus*.

Fig. 5 Eliminación de huevos de NGE en un ovino inoculado con 10,000 larvas infectantes.

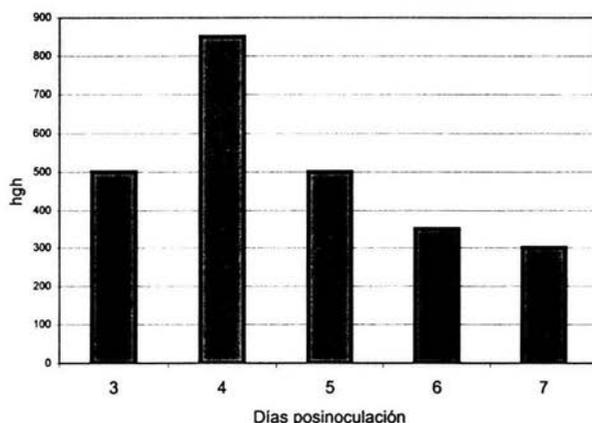


Las fases adultas de *H. contortus* fueron separadas del abomaso del ovino donador y su identificación se logró por sus características morfológicas.

En el primer ovino receptor de los adultos de *H. contortus* (aproximadamente 150 parásitos entre hembras y machos), no fue posible la detección de huevos del nematodo, desde el día siguiente hasta la semana de la cirugía. El pH del abomaso en el animal donador era de 4.5 y en el receptor de 3.0.

En el otro cordero receptor (que recibió una dieta rica en forraje y bicarbonato de sodio por vía endovenosa), al tercer día del traspaso directamente al abomaso de 200 fases adultas (aproximadamente 50% de hembras y 50% de machos) de *H. contortus*, se presentó una eliminación de huevos de 500 hgh, incrementándose a 850 hgh a los cuatro días, disminuyendo paulatinamente desde 500 a 300 hgh a los siete días de la cirugía (Fig. 6). En este caso, el pH abomasal del ovino donador de *H. contortus* fue de 4.5, mientras que el pH del animal receptor de los parásitos fue de 4.0.

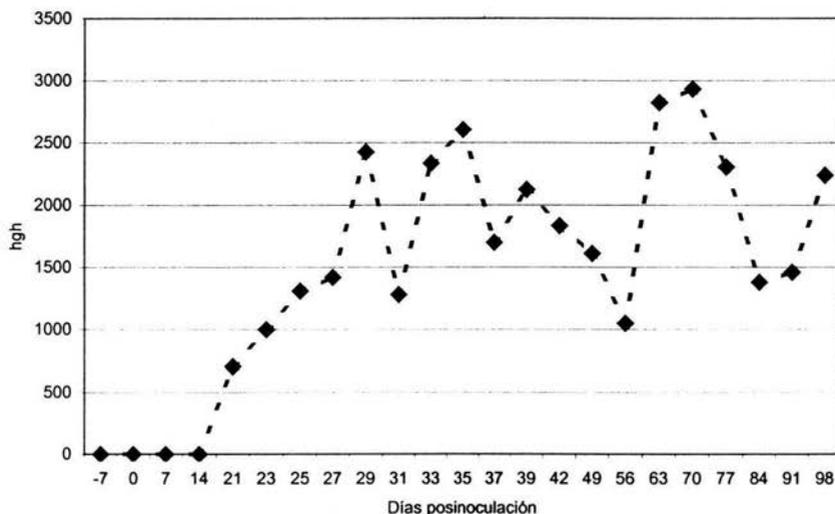
Fig. 6 Eliminación de huevos de *Haemonchus contortus* en el ovino inoculado por vía intra-abomasal



De ese segundo animal, se colectaron aproximadamente 500 g de materia fecal para realizar cultivos larvarios. A la semana se efectuó la cosecha y se comprobó

que solo había L₃ de *H. contortus*. De esos cultivos se elaboraron inóculos los que se administraron a los diez corderos de la raza Columbia. En ellos la eliminación de huevos ocurrió en promedio a los 21 días después de la inoculación (fig. 7). Posteriormente se presentó un aumento paulatino pero constante llegando a una cantidad de 2,425 hgh a los 29 días posinoculación. Después existieron altibajos en la eliminación de huevos, alcanzando la cifra máxima a los 70 días de administradas las larvas de *H. contortus* cuando hubo 2,950 hgh.

Fig. 7 Eliminación de huevos de *Haemonchus contortus* en ovinos Columbia.



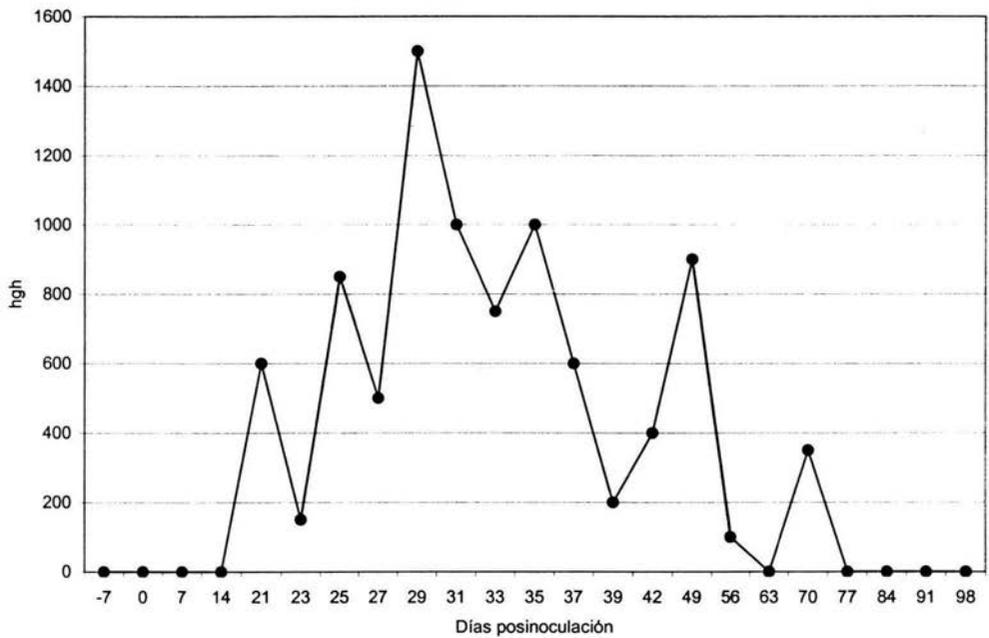
Por otro lado, las hembras adultas de *H. contortus* colectadas del abomaso del ovino donador fueron separadas en solución salina fisiológica, identificadas y cuantificadas. De ellas se tomaron 300 hembras y después de macerarlas el producto se colocó para cultivo larvario, la mitad en una caja de petri con aserrín y la otra mitad en una caja de petri con heces de ovino, molidas y estériles.

En el producto del macerado de hembras de *H. contortus* colocado en aserrín fue imposible la colección de L₃ hasta los 15 días posteriores a la fecha en que se inició la incubación. Por su parte, el macerado incubado en heces de ovino estériles, hubo presencia de escasas larvas a partir de los siete días. Dichas larvas se cosecharon y se preparó un inóculo de aproximadamente 3,000 L₃ para ser aplicado a un cordero libre de NGE. En ese animal hubo eliminación de huevos de *H. contortus* a los 20 días posinoculación (fig. 8). El conteo inicial fue de 600 hgh, existiendo altibajos en las siguientes evaluaciones, alcanzando el máximo de 1,500 hgh a los 29 días

posinoculación. Posteriormente se presentó una tendencia de disminución en la eliminación de huevos, encontrando resultados negativos a partir de los 77 días de la inoculación.

Tanto de las heces de los ovinos de raza Columbia, como del animal inoculado a partir de cultivos de hembras maceradas, se elaboraron numerosos cultivos para contar con L₃ de *H. contortus* para futuras inoculaciones y mantener la cepa aislada.

Fig. 8 Eliminación de huevos de *Haemonchus contortus* en un cordero inoculado con larvas provenientes de un macerado de hembras adultas.



DISCUSIÓN

La nematodiasis gastroentérica es una de las enfermedades que afectan la producción de carne en la mayoría de los países donde la producción ovina es una actividad económica muy importante (Coop y Jackson, 2000). Indudablemente, en México es uno de los principales problemas sanitarios (Cuéllar, 1999).

Entre los agentes etiológicos de la nematodiasis gastroentérica, está el *Haemonchus contortus*, que por su frecuencia y elevada virulencia es considerado el nematodo gastrointestinal más importante, particularmente en los ecosistemas con clima templado o subtropical y trópico húmedos (Meana y Rojo, 1999).

Siendo el *H. contortus* el agente más frecuente en los diversos sistemas de producción ovina en México (Cuéllar, 2002b), se hace necesario contar con trabajos controlados que permitan un mejor entendimiento en sus diferentes facetas (virulencia, patología, inmunología, farmacología, etcétera), por lo tanto, resulta imprescindible contar con una cepa mono-específica de dicho nematodo para evitar las variaciones lógicas que ocurren en las infecciones naturales, donde, en la mayoría de las ocasiones, hay dos o más géneros de nematodos gastroentéricos en el mismo animal. Esta situación resulta complicada al existir diversas localizaciones en el aparato gastrointestinal para los nematodos involucrados en esta parasitosis.

El cuadro clínico de nematodiasis en el animal donde se colectó la materia fecal para efectuar los cultivos de larvas, era característico de la enfermedad (Kimberling, 1988) y se confirmó la presencia de NGE a través de los exámenes coproparasitológicos de Mc Master y cultivo larvario, por medio de este último pudo comprobarse la presencia de cuatro géneros de NGE, siendo el *H. contortus*, el que en mayor proporción se encontró (75%), situación que concuerda con prácticamente todos los reportes sobre frecuencia de NGE en diversos sistemas productivos ovinos en el país (Quiroz, 1989).

Ya efectuados los cultivos y después de su inoculación a dos corderos libres de NGE, para uno de los corderos, el periodo de prepatencia fue de 20 días, cifra que está dentro del rango normal para dicho periodo para los géneros de NGE en ovinos (Cuéllar, 2002a). Posteriormente se presentó una elevación en la eliminación de huevos, en uno de los animales llegó al 32,100 hgh a los 35 días de inoculadas las larvas (L₃) de NGE. Ese comportamiento es típico de animales que reciben un desafío elevado en un solo momento (Coyne y Smith, 1992). Este animal, que tuvo una gran eliminación de huevos fue sacrificado para la obtención de fases adultas de *H. contortus*.

Del animal sacrificado, cuyo pH abomasal era de 4.5, se seleccionaron y apartaron las fases adultas de *H. contortus* basándose en sus características morfológicas particulares (tamaño y color), que los hace inconfundibles con los otros NGE que comparten el abomaso como su localización anatómica (Levine, 1978; Soulsby, 1987; Quiroz, 1989; Meana y Rojo, 1999).

El otro de los animales, evidentemente más susceptible, falleció a las dos semanas de la inoculación de 10,000 L₃ de NGE, mostrando un cuadro típico de nematodiasis gastroentérica aguda -mucosas pálidas, debilidad, depresión y diarrea- (Kimberling, 1988). Cuando se administran una gran cantidad de larvas infectantes se puede correr el riesgo de adquirir un cuadro sobreagudo que lleva a la muerte al animal (Andrews, 1942 y Dinee y col., 1965 citados por Mugambi y col., 1996), situación que resulta poco común bajo las condiciones de una infección natural (Miller y col., 1998).

Después separados y contados los adultos de *H. contortus*, se colocaron directamente en el abomaso de los dos corderos receptores. En el primero, que tenía un pH abomasal de 3.0, cifra considerada como normal (Gürtler y col., 1987; Fradson y Spurgeon, 1995), no se logró la detección de huevos en ninguno de los muestreos diarios. La posible razón de lo anterior fue que dada su alimentación rica en carbohidratos de fácil fermentación, produciendo una disminución crónica en el pH del tracto alimentario (Church y col., 2002), desde el rumen hasta el intestino delgado, lo que produjo la muerte de los adultos de *H. contortus* transplantados. Está demostrado que la infección por *H. contortus* induce una elevación en el pH del abomaso, llegando a niveles de 4.0 ó 5.0 (Brow y col., 1970; Bueno y col., 1981; Dakkak y col., 1982).

Para el segundo cordero, que recibió una dieta más elevada de forraje en relación al alimento balanceado bicarbonato de sodio por vía subcutánea, se registró un pH de 4.0. Esto favoreció la implantación de los adultos de *H. contortus* transferidos al abomaso del animal receptor. Lo anterior fue evidente al detectar, desde el tercer día posterior a la cirugía y aunque en cifras no tan altas, la presencia de huevos en las heces. El pH de este segundo ovino receptor se acerca al del un animal con hemoncosis (Brow y col., 1970; Bueno y col., 1981; Dakkak y col., 1982).

Las hembras adultas de *H. contortus* que no fueron empleadas para ser transferidas a un animal fueron maceradas y se realizaron cultivos larvarios con ellas. Se practicaron dos técnicas de cultivo larvario descritas por Herrera y col. (1984), la primera empleando aserrín estéril y la segunda, en heces de ovino molidas y estériles.

Con el aserrín estéril no fue posible la cosecha de larvas tras el tiempo y temperatura recomendados para ese propósito (siete días a 27°C). Una razón muy

probable de ese fracaso fue la presencia de sustancias nematodocidas en las resinas de la madera. Actualmente, un método no farmacológico para el tratamiento de la nematodiasis gastroentérica es el empleo de forrajes que contienen taninos condensados, los cuales deprimen considerablemente la población de NGE en pequeños rumiantes con infección natural (Min y col., 2004). Aunque no fue identificado el origen o tipo de madera del aserrín empleado, es posible que tuviera altas concentraciones de dichos compuestos. Cabe mencionar que por el momento no se conoce el mecanismo de acción de los taninos condensados contra los NGE (Molan y col., 2003).

Las L₃ colectadas de los cultivos del cordero que fue inoculado por vía intra-abomasal, fueron administradas a los corderos de la raza Columbia, empleando un esquema de inoculación de 6,000 L₃ (1,000 L₃ /semana por seis semanas). Este esquema es recomendado por Mugambi y col. (1996) para disminuir los efectos de un desafío grande que pueda inducir una hemoncosis aguda y mortal, así como para acercarse lo más posible a una infección de tipo natural. En esos animales, la eliminación de huevos fue elevada y constante hasta los casi 100 días posinoculación.

CONCLUSIONES

- Se logró aislar la cepa monoespecífica de *Haemonchus contortus* a partir de un caso natural de nematodiasis gastroentérica.
- Se verificó que el mejor método para la inoculación intra-abomasal fue cuando días previos al animal se le alimentó con forraje y se aplicó bicarbonato de sodio con la finalidad de incrementar el pH del abomaso y disminuir la mortandad de adultos de *H. contortus* después de la transferencia.
- La mejor técnica para obtención de larvas de *H. contortus* a partir de macerado de hembras adultas fue cuando se utilizaron heces de ovino estériles.
- Finalmente, fue posible mantener y efectuar pases de la cepa aislada de *H. contortus* en corderos de la raza Columbia libres de NGE.

BIBLIOGRAFÍA

1. Armour, J. (1980). The epidemiology of helminthes disease in feral animals. *Vet. Parasitol.* 6: 7-46.
2. Blood, D.C., Radostits, M.O., Gay, C.C. (1992). *Medicina veterinaria*. 7ª. Edición. Edit. Interamericana, México.
3. Booth H. N., McDonald, E.L. (1988). *Farmacología y terapéutica veterinaria*, 1º Edición. Edit. Acribia.
4. Borchert, A. (1975). *Parasitología veterinaria*. 3ª Edición. Edit. Acribia, Zaragoza España.
5. Bueno, L., Dakkak, A., Fioramonti, J. (1982). Gastro-duodenal motor and transit disturbances associated with *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Parasitol.* 84: 367-374.
6. Castell, M.D. (2003). Métodos alternativos para el control de endoparásitos: "Uso de huéspedes resistentes. [www//cniia.inta.gov.ar/helminto](http://cniia.inta.gov.ar/helminto)
7. Coop, R.L., Jackson, F. (2000). Gastrointestinal helminthosis. En: *Disease of sheep*. Editado por: Martin, W.B. y Aitken I.D. 3ª Edición. Edit. Moredum. USA.
8. Coyne, J.M., Smith, G. (1992). The mortality and fecundity of *Haemonchus contortus* in parasite-naive and parasite-exposed sheep following single experimental infections. *Int. J. Parasitol.* 22 (3): 315-325.
9. Cuéllar; O.J.A. (1986). Nematodiasis gastroentérica. En: *Principales enfermedades de los ovinos y caprinos*. Edit. P. Pijoan A. y J. Tórtora. México.
10. Cuéllar, O.J.A. (1992). Epidemiología de las helmintiasis del aparato digestivo y respiratorio 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.
11. Cuéllar, O.J.A. (1999). Situación de la gastroverminosis de los ovinos en México. Mem. Primer Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Montevideo, Uruguay.

12. Cuéllar, O.J.A. (2002a). Agentes etiológicos de la nematodiasis gastrointestinal en los diversos ecosistemas ovinos en México. Memorias del Segundo Curso Internacional: Epidemiología y Control Integral de Nematodos Gastrointestinales de Importancia Económica en Pequeños Rumiantes. Mérida, Yucatán.
13. Cuéllar, O.J.A. (2002b). El ambiente y su efecto sobre la cantidad de parásitos en las praderas y agostaderos. Memorias del Segundo Curso Internacional: Epidemiología y Control Integral de Nematodos Gastrointestinales de Importancia Económica en Pequeños Rumiantes. Mérida, Yucatán.
14. Cuéllar, O.J.A. (2003). Efecto de la parasitosis sobre la eficiencia alimenticia de los ovinos. Memorias del curso *Alimentación en ovinos*. AMTEO. Pachuca, Hidalgo.
15. Dakkak, A. Fioramonti, J. y Bueno, L. (1982). *Haemonchus contortus*: Abomasal transmural potential difference and permeability changes associated with experimental infection in sheep. *Exp. Parasitol.* 53: 209-216.
16. Duun, M.A. (1983). *Helmintología veterinaria*. 1ª Edición. Edit. El Manual moderno. México.
17. Fox, M.T. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet. Parasitol.* 72: 285-308.
18. Frandson, B.S., Spurgeon, T.L. (1995). *Anatomía y fisiología de los animales domésticos* 5ª Edición. Edit. Interamericana. México.
19. Gürtler, H., Ketz H.A., Kolbe., Schöder, L. Seidel, H. (1987). *Fisiología veterinaria*, Edit. Acribia.
20. Herrera, R.D., Beltrán, J.L.S., Cuéllar, O.J.A. (1984). Valoración de seis técnicas de coprocultivo para *Haemonchus contortus*. V Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. Toluca, México.
21. Kassai, T. (1998). *Helmintología veterinaria*. Edit. Acribia.
22. Kimberling, C.C. (1988). *Jensen and Swift's. Diseases of sheep*. Lea and Febiger. Philadelphia, USA.

23. Lapage, G. (1981). Parasitología veterinaria. 1ª Edición. Edit. Compañía Editorial Continental. México.
24. Levine, N.D. (1978). Tratado de parasitología veterinaria, Edit. Acribia. Zaragoza España.
25. Liébano, H.E., Vázquez, P.V., Fernández, R.M. (1998). Sobrevivencia de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en un clima subcálido subhúmedo en México. Vet. México. 29: 245-249.
26. Meana, 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.
27. Miller, J.E., Bahirathan, M., Lemarie, S.L., Hembry, F.G., Kearney, M.T., Barras, S.R. (1998). Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. Vet. Parasitol. 74: 55-74.
28. Min, B.R., Pomroy, W.E., Hart, S.P., Sahl, T. (2004). The effect of short-term consumption of a forage containing condensed tannins on gastro-intestinal nematode parasite infections in grazing wether goats. Small Rum. Res. (en prensa).
29. Molan, L.A., Duncan, J.A., Barry, N.T., McNabb, C.W. (2003). Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. Parasitol. Int. 52: 209-218.
30. Morales, G., Pino, M.L.A. (2003). Métodos alternativos para el control de los estróngilos digestivos en ovinos.
<http://www.cirual.asso.fr/publication/venezuela/conferencias/metodos.htm>
31. Mugambi, J.M., Wanyangu, S.W., Bain, R.K., Owango, M.O., Duncan, J.L., Stear, M.J. (1996). Response of Dorper and red Maasai lambs to trickle *Haemonchus contortus* infections. Res. Vet. 61: 218-221.
32. Quiroz, R.H. (1989). Parasitología y enfermedades de los animales domésticos. 1ª Edición. Edit. Limusa. México.
33. Saumell, C.A., Fernández, A.S. (2000). Hongos nematófagos para el control biológico de nematodos parásitos de rumiantes. Rev. Med. Vet. 81: 270-273

34. Schallig, H.D.F.H. (2000). Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*. Parasitol. 120: S63-S72.
35. Simpson, H.V., Lawton, D.E.B., Simcock, D.C., Reynolds, G.M., Pomroy, W.E. (1997). Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. Int. J. Parasitol. 27: 825-831
36. Smith, M.C., Sherman, D.M. (1994). Goat medicine. Edit. Lea & Febiger
37. Smith, W.D., Smith, S.K. (1993). Evaluation of aspects of the protection afforded to sheep immunized with a gut membrane protein of *Haemonchus contortus*. Res. Vet. Sci. 55: 1-9.
38. Sousby, J.L. (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 7ª Edición. Edit. Interamericana. México.
39. Theodoropoulos, G., Zervas, G., Koutsotolis, K., Nikolaou, E., Kalogiannis, D., Petrakos, G. (1998). The effect of dietary protein levels before turnout on subsequent faecal nematode egg output of grazing sheep in the Joannina region of Greece. Res. Vet. Sci. 65: 269-271.
40. Tizard, I. (1998). Inmunología veterinaria. 2ª Edición. Edit. Interamericana. México.
41. Torres, A.J.F., Jacobs, D.E., Aguilar, C.A.J., Sandoval, C.C. (2000). Utilizando la suplementación como una estrategia para el control de la nematodiasis gastrointestinal en caprinos y ovinos. Memorias Primer curso internacional de *Nuevas perspectivas en el diagnóstico y control de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes*. Mérida, Yucatán.
42. Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, M.M., Jennings F.W. (2001). Parasitología veterinaria, Edit. Acribia
43. Velasco, G.S., Campos, R.R., Herrera, R.D., Heras, B.F., Quiroz, R.H. (1991). Efectividad de la ivermectina contra *Haemonchus contortus* resistentes a los bencimidazoles. Vet. México. 22: 451-455.
44. Wallace, D.S., Bairden, K., Duncan, J.L., Fishwick, G. (1996). Influence of soyabean meal supplementation on the resistance of Scottish blackface lambs to haemonchosis. Res. Vet. Sci. 60: 138-143.