



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**EVALUACIÓN DE UNA VACUNA CONTRA
Haemonchus Contortus EN CORDERAS PELIBUEY
EN EL TRÓPICO SUBHUMEDO DE MÉXICO**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

José Alejandro Cáceres Mejía

ASESORES:

Dr. Armando Aguilar Caballero.

Dr. Juan Felipe de Jesús Torres Acosta

Mérida, Yuc., México, Septiembre del 2016

DECLARACIÓN

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

AGRADECIMIENTOS

“A Dios por estar conmigo en todo momento por fortalecerme y sobre todo por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte”.

A mi madre y mis hermanos que me han apoyado en todo momento y al igual me han enseñado a no rendirme ante nada.

A mi novia Nadia Angélica Jiménez Luna por todos los buenos momentos que hemos vivido juntos y por volverse una parte importante de mi vida.

Agradezco especialmente a mi tío Felix Alejandro Parra Trejo por apoyarme en los momentos difíciles y ser como un segundo padre para mí.

A mi abuelo Eutimio Cáceres Farfan que me demostró la importancia de la familia y con sus enseñanzas y consejos pude salir adelante.

A mis tías Patricia, Beatriz y Paula Mejía por su cariño incondicional y por demostrarme la gran fe que tienen en mí.

A mi abuelos Tomas Mejía y María de Jesús Nabte por su apoyo incondicional en el transcurso de mi carrera universitaria, por compartir buenos momentos y demostrarme que siempre podré contar con ellos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado.

Al Dr. Armando Aguilar por su apoyo y consejos en todo momento al momento de la realización de esta tesis.

Al Dr. Felipe Torres Aguilar por su apoyo y asesoría en la realización de esta tesis.

A las químicas Ana, Iris y Vanesa por brindarme sus enseñanzas y amistad.

Al M en C. Jovanny Gaspar Palomo Couoh por sus consejos que me sirvieron mucho en estos dos años.

A mis compañeros y amigos que me acompañaron en estos años de aprendizaje y me demostraron su apoyo, colaboración, ánimo pero sobre todo cariño.

Resumen.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP), sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de *Haemonchus contortus*, el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre (EP), el nivel de IgG en sangre, el hematocrito (Ht) y la ganancia de peso (GP) en corderas Pelibuey bajo pastoreo durante la época de lluvia en el trópico subhúmedo de México. Se utilizaron 40 corderas Pelibuey de 6 meses de edad criadas libres de nematodos gastrointestinales (NGI) y un peso promedio de 33 ± 4.47 kg. Las corderas fueron distribuidas al azar en dos grupos (n=20): a) Grupo Control sin tratamiento y b) Grupo Vacunado, tratado con 5 μ g antígeno purificado (H11 y H-gal-GP)/ animal en los días 0, 21, 42 y 84 del estudio. Las primeras tres inmunizaciones se aplicaron estando las corderas en estabulación. Después de la tercera dosis dio inició el pastoreo (infección natural con NGI) en praderas de pasto *Cynodon nlemfluensis* bajo riego. La última inmunización se realizó 6 semanas después del inicio del pastoreo. A los 58 días después de la última inmunización (día 142 del estudio) 5 animales de cada grupo fueron inoculadas con 7500 larvas L₃ de *H. contortus*/animal. El día 0 del estudio y cada 14 días, las corderas fueron pesadas individualmente y se tomaron muestras de heces, sangre y suero para determinar la cuenta de HPG de NGI, Ht, EP y los niveles de IgG. La vacunación no mostró efecto alguno sobre la GP y Ht. La infección con NGI en los corderos durante el pastoreo fue patente a partir del día 28 del estudio (grupo vacunado = 10 HPG de NGI y grupo control = 27.5 HPG de NGI, P>0.05). La eficacia de la vacunación al reto con *H. contortus* sobre la cuenta de HPG fue de 95% (P<0.05). El porcentaje de EP fue mayor en el grupo vacunado durante todo el estudio (P<0.05), sin embargo, los niveles de IgG fueron similares entre ambos grupos (P>0.05). Se concluye que la inmunización de corderas de pelo bajo pastoreo con una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) fue eficaz para el control de *H. contortus*, mejoró la respuesta eosinofílica, redujo la cuenta de HPG de *H. contortus* ante un reto parasitario, pero no mejoró la ganancia de peso, hematocrito ni el nivel de IgG en corderas Pelibuey en el trópico subhúmedo de México.

Palabras clave: *Haemonchus*, Vacuna, Corderas Pelibuey, Eosinófilos, HPG.

Abstract

The objective of the present work was to evaluate the effectiveness of a vaccine with of H11 and H-gal-GP on the eggs per gram of feces (EPG) of *Haemonchus contortus*, the percentage of blood peripheral eosinophils (BPE), the level of IgG, the hematocrit (Ht) and weight gain (GP) In Pelibuey ewe lambs under grazing conditions during the rainy season in the sub-humid tropics of Mexico. 40 Pelibuey ewe lambs of 6 months of age reared free of gastrointestinal nematodes (NGI) and an average weight of 33 ± 4.47 kg were used. The ewe lambs were randomly distributed into two groups (n=20): a) control group without treatment and b) vaccinated group was treated with 5 μ g purified antigen (H11 and H-gal-GP)/animal on the days 0, 21, 42 and 84 of the study. The first three immunizations were applied when the ewe lambs were in confinement. Grazing period (natural infection with NGI) initiated after the third immunization. The ewe lambs grazed *Cynodon nlemfluensis* grass under irrigation. The last immunization was made 6 weeks after the start of the grazing. 58 days after the last immunization (day 142 of the study), 5 animals in each group were inoculated with 7500 L3 larvae of *H. contortus*/animal. The day 0 of the study and every 14 days, the lambs were individually weighed and samples of stool, blood and serum were taken to determine the account of EPG, HT, BPE, and IgG levels. There was no effect of Vaccination on GP and HT. The patency of infection with NGI in lambs during the grazing was evident on day 28 of the study (vaccinated group = 10 EPG of NGI and Control Group = 27.5 EPG of NGI, $P > 0.05$). The efficacy of vaccination to the challenge with *H. contortus* on HPG was 95% ($P < 0.05$). The percentage of BPE was higher in the vaccinated group throughout the study ($P < 0.05$), however, the IgG levels were similar between both groups ($P > 0.05$). It is concluded that the immunization with 5 μ g of H11 and H-gal-GP was efficacy for the control of *H. contortus*, increased the eosinophilic response, reduced EPG of *H. contortus* during parasite challenge, but not improved weight gain, hematocrit or the level of IgG in Pelibuey ewe lambs under grazing conditions during the rainy season in the sub-humid tropics of Mexico.

Keywords: *Haemonchus*, Vaccine, Lambs Pelibuey, Eosinophils, EPG.

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	3
2.1. Nematodos	3
2.2. Clasificación	3
2.3. Familia <i>Trichostrongylidae</i>	4
2.4. Género <i>Haemonchus Cobb</i>	4
2.5. <i>Haemonchus contortus</i>	4
2.6. Ciclo biológico de <i>H. contortus</i>	5
2.7. Distribución geográfica de <i>H. contortus</i>	5
2.8. Patogenicidad de <i>H. contortus</i>	6
2.9. Mecanismos de defensa	6
2.10. Factores que influyen en la respuesta inmune	7
2.10.1. Edad	7
2.10.2. Sexo	7
2.10.3. Especie y Raza	8
2.10.4. Nutrición	8
2.11. Inmunidad innata frente a parásitos	8
2.12. Inmunidad adaptativa frente a parásitos	9
2.13. Respuesta inmunitaria contra nematodos	9
2.14. Inmunidad humoral	10
2.15. Inmunidad Celular	10
2.16. Métodos de control de nematodos gastrointestinales	11
2.16.1. Tratamiento antihelmíntico	11
2.16.2. Métodos alternativos para el control de nematodos gastrointestinales	12
2.16.3. Vacunación	12
2.16.3.1. Larvas irradiadas	12
2.16.3.2. Antígenos naturales	13
2.16.3.3. Vacunas recombinantes	14
2.16.3.4. Antígenos ocultos	14
2.16.3.4.1. Antígeno H11	15
2.16.3.4.2. Antígeno H-gal-GP	15
2.16.4.3. Vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP)	16
3.1. Objetivo general	18

3.2. Objetivos específicos	18
4. Hipótesis	18
5. Bibliografía	19
6. Artículo Científico	30
Resumen.....	31
1. Introducción.....	32
2. Materiales y Métodos.....	34
2.1 Ubicación.....	34
2.2 Animales.....	34
2.2.1. Producción de corderos libres de NGL.	34
2.3 Alojamiento y alimentación.....	34
2.4 Administración de la vacuna	35
2.5. Obtención de larvas infectivas.....	35
2.6 Reto con larvas L ₃ de <i>H. contortus</i>	35
2.7 Mediciones	35
3. Resultados.	38
3.1 Eficacia de la vacuna.....	38
3.2 Carga de huevos por gramo de heces.	38
3.3 Hematocrito.	38
3.4 Respuesta de eosinófilos periféricos en sangre.	38
3.5 Respuesta en la concentración de IgG.....	38
3.5. Ganancia de peso vivo acumulado	39
4. Discusión.	40
6. Conclusión.....	43
7. Referencias.....	44

Índice de cuadros.

Cuadro 1. Pruebas de eficacia de la vacuna de antígenos ocultos en diferentes países del mundo.....	17
Cuadro 2. Promedios de ganancia de peso vivo acumulado (GPVA) en corderas inmunizadas con una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) y sin vacunar durante la época de lluvias en el Trópico subhúmedo de México	50

Índice de figuras.

Figura 1. Número promedio de huevos por gramo de heces (HPG) de nematodos gastrointestinales en corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.....	50
Figura 2. Valores de hematocrito (%) en corderas de pelo tratadas con un vacuna con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.....	51
Figura 3. Porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre de corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.....	51
Figura 4. Nivel de IgG en corderas de pelo tratadas con una vacuna con una vacuna de antígenos oculto (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.....	52

1. Introducción

La producción de ovinos en pastoreo en el trópico subhúmedo tiene una gran potencial para la generación de proteína de origen animal. Sin embargo, bajo estas condiciones los nematodos gastrointestinales (NGI) son una limitante para la salud y producción de los animales que debe ser atendida (Knox *et al.*, 2006). Los NGI son responsable de grandes pérdidas económicas por sus efectos patógenos sobre sus hospederos tales como: anemia, diarreas, malabsorción de nutrientes, que propician menores ganancias de peso, menor producción de leche (Torres-Acosta y Aguilar-Caballero, 2005a). En el trópico mexicano, dentro de la familia Trychostrongylidae, los NGI de mayor interés son los del género *Haemonchus sp.*, ya que estos parásitos son los más frecuentes y de mayor prevalencia en el medio ambiente. Estos NGI provocan alteraciones fisiopatológicas que dan lugar a signos clínicos como: Anemia con grados variables de edema, letargo, diarrea, coloración oscura de las heces, pelo hirsuto, pérdida de peso, debilidad y la muerte del hospedero (González-Garduño *et al.*, 2003; Aguilar-Caballero *et al.*, 2005). Las infecciones causadas por *H. contortus* son una limitación importante para los ovinos y caprinos tanto para la salud de los animales como en la economía de los productores. *H. contortus* afecta el abomaso de su huésped. Los parásitos adultos se alimentan de sangre y pueden causar anemia, resultando en una mala tasa de crecimiento y pérdida de peso, infecciones graves pueden ocasionar la muerte del hospedero. El control de los NGI por muchos años se realizó con fármacos químicos (Torres-Acosta y Aguilar-Caballero, 2005b). Sin embargo, su manejo irracional propició la aparición de cepas de NGI resistentes a estos fármacos (Jabbar *et al.*, 2006, Torres-Acosta *et al.*, 2012, Mederos *et al.*, 2014). Debido a esto, se están probando diferentes métodos alternativos para el control de los NGI (Sanyal *et al.*, 2008). La inmunización contra *H. contortus* es uno de los métodos alternativos que se está probando en pequeños rumiantes (Knox y Smith, 2001). Sin embargo, las vacunas deben tener atributos como: facilidad de uso, estimulación del sistema inmune del propio animal, inocuidad para el ecosistema y la salud pública (Hernández, 2011). La inmunización contra *H. contortus* se ha realizado usando larvas irradiadas (Le jambre *et al.*, 1999), antígenos naturales y ocultos del parásito (Hernández, 2011). Actualmente se está comercializando una vacuna que mostró resultados prometedores (Smith *et al.*, 2001). Esta fue desarrollada por el Dr. W.D. Smith del Moredun

Research Institute (Edinburgh, Scotland, UK). Esta vacuna es producida con antígenos “ocultos” del intestino del *H. contortus* adulto. Posteriormente, se realiza un proceso de purificación cromatográfica. Esta vacuna estimula la producción de anticuerpos que afectan los intestinos del parásito y su nutrición provocando la muerte de los parásitos. La eficacia de la vacuna depende de inmunizaciones repetidas (Le Jambre *et al.*, 2008). Este procedimiento ha mostrado ser un método de control eficaz en rumiantes parasitados (Kabagambe *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2001; Le Jambre *et al.*, 2008; Bassetto *et al.*, 2014). Existe evidencias de su eficacia en el Reino Unido, Australia (Le Jambre *et al.*, 2008), Sudáfrica (Smith *et al.*, 2001), Uruguay, Brasil (Bassetto *et al.*, 2014) y Estados Unidos (Kabagambe *et al.*, 2000). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP), sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de *Haemonchus contortus*, el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre (EP), el nivel de IgG en sangre, el hematocrito (Ht) y la ganancia de peso (GDP) en corderas Pelibuey bajo pastoreo durante la época de lluvia en el trópico subhúmedo de México.

2. Revisión bibliográfica

2.1. Nematodos

El Phylum: *Nematoda* incluye el grupo más numeroso de parásitos de los animales domésticos y del ser humano. Estos tipos de parásitos cuentan con un cuerpo cilíndrico, no segmentado con un tracto gastrointestinal y una cavidad general. Son de forma redonda en sección transversa y están cubiertos por una cutícula resistente a la digestión intestinal. Son gusanos que se encuentran extensamente distribuidos en una gran variedad de hábitats; algunos tienen vida libre, otros son de plantas y de animales vertebrados o invertebrados (Quiroz-Romero, 2002).

Los nematodos que afectan a los pequeños rumiantes son de gran importancia económica, debido a la elevada morbilidad y la disminución en la ganancia de peso que provocan en sus hospederos (Quiroz-Romero, 2002).

Las infecciones por NGI en los ovinos naturalmente ocurren bajo infecciones mixtas. Los NGI afectan diferentes regiones del tracto gastrointestinal, observándose preferencias en las diferentes secciones para diferentes parásitos: abomaso (*Haemonchus contortus*), intestino delgado (*Trichostrongylus colubriformis*), intestino grueso (*Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris ovis*) (Quiroz-Romero, 2002).

2.2. Clasificación

Los nematodos gastrointestinales pertenecen al Reino: Animalia, Phylum: Nematoda, estos se dividen en dos grandes subclases; Phasmidia y Aphasmidia. (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2000). La subclase Phasmidia se encuentra integrada por las familias: a) Trichostrongylidae; a esta familia pertenecen los géneros, *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Mecistocirrus* y *Teladorsagia*. b) Ancylostomidae, a esta familia pertenece el género *Bunostomum*. c) Trichonematidae, esta familia incluye al género *Oesophagostomum*. d) Strongylidae, en esta familia se encuentran el género *Chabertia*. e) Rhabditidae. El género representativo es *Strongyloides*.

La subclase Aphasmidia se encuentra representada dentro de las verminosis gastroentéricas por la familia Trichuridae. El género característico de esta familia es *Trichuris* (Quiroz-Romero y Figueroa-Castillo, 2011).

2.3. Familia *Trichostrongylidae*

Los parásitos pertenecientes a la familia *Trichostrongylidae* generalmente se localizan en el tracto digestivo de rumiantes, equinos y otros vertebrados. Estos son nematodos filiformes que miden de 0.3 a 4 cm de longitud. El aparato reproductor de las hembras es bicornal. La vulva se localiza en el tercio posterior del cuerpo. Los machos tienen bolsa copuladora bien desarrollada. Los huevos salen con las heces en fase de blástula con un número variable de blastómeros (16-32), según especie (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2000). Los géneros más importantes son *Trichostrongylus*, *Ostertagia* (*Teladorsagia*), *Marshallagia*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Haemonchus* y *Mecistocirrus*. Su distribución es mundial (Kassai T., 1999).

2.4. Género *Haemonchus* Cobb

Las especies que pertenecen a este género se encuentran en el abomaso de los rumiantes. Los parásitos adultos pueden llegar a medir entre 10 y 30 mm, estos cuentan con una cápsula bucal pequeña que posee una lanceta. Las papilas cervicales son prominentes y la bolsa copuladora del macho es grande, siendo característico el lóbulo dorsal pequeño y asimétrico. La vulva suele estar protegida por una solapa o lengüeta (Bowman, 2011). Existen 12 especies representativas de este género. La especie que afecta a los pequeños rumiantes se llama *H. contortus* y la especie que parasita al ganado vacuno es *H. placei*, pudiéndose establecer entre ambas algunas diferencias morfológicas y genéticas (Lindqvist *et al.*, 2001).

2.5. *Haemonchus contortus*

El *H. contortus* es un nematodo que parasita el abomaso de ovejas y cabras. El *H. contortus* es un parásito hematófago. Este se alimenta de la sangre de su hospedero, provocando anemia en los animales infectados. Es fácilmente detectable a simple vista en su etapa de adulto, ya que debido a sus hábitos alimenticios, este cuenta con una coloración rojiza en el intestino, que en las hembras alterna con el color blanco de los cordones sexuales enrollados. Las hembras miden entre 18-30 mm de largo y 0.4-0.5 mm de ancho, mientras que los machos tienen una longitud de 10-20 mm de largo y 0.1- 0.15 mm de ancho (Zajac, 2012). Los machos poseen una bolsa copuladora caudal en la que se observan dos lóbulos laterales simétricos y un lóbulo dorsal asimétrico, además de dos espículas y un gubernáculo. En las hembras se puede apreciar una amplia solapa supravulvar en el cuarto posterior del cuerpo, el tamaño de la solapa vulvar de la hembra es variable, pudiendo ser muy prominente, o

prácticamente inapreciable. (Gómez Muñoz, 2002). Los huevos de *H. contortus* cuentan con una morfología típica de estrongiloides, miden entre 70-85 x 41-48 µm, y salen con las heces del hospedador conteniendo una mórula de 16-32 blastómeros (Zajac, 2012).

2.6. Ciclo biológico de *H. contortus*

El ciclo biológico del *H. contortus* es monoxeno (huevo-larva-adulto) con fase larvaria libre. Los huevos son eliminados en las heces, si las condiciones ambientales son adecuadas, del huevo se desarrolla en larva de primer estadio (L-1), la larva 1 muda a larva 2 en 1-2 días. Posteriormente estas pasan a larvas tres (L-3) de 5 días hasta 4 meses. Las L-3 son la fase infectante del parásito (Aguilar *et al.*, 2011).

Las larvas infectantes pueden migrar vertical y horizontalmente en el pasto. La migración vertical les permite subir a las gotas de rocío que se encuentran en la punta de la planta en las mañanas o en los días nublados. Estas condiciones permiten a las larvas ser ingeridas por las ovejas durante el pastoreo. En el rumen experimentan el desvainado por acción del ácido carbónico (H₂CO₃) procedente del hospedador (Petronijevic *et al.*, 1985) y de algunas enzimas que podrían ser lipasas, pseudocolagenasas y leucina aminopeptidasa (Rogers, 1982).

Al ser ingeridas por el animal, las larvas penetran los tejidos del abomaso e intestinos donde mudan y pasan a L₄, después se transforman en L₅ o preadultos que maduran sexualmente y pasan a adultos. Tras la cópula, las hembras parásitas ponen huevos, completando así el ciclo biológico (21 días pos ingestión de las L-3) (Aguilar-Caballero *et al.*, 2011).

2.7. Distribución geográfica de *H. contortus*

Por muchos años se consideró que *H. contortus* era un NGI que habitaba en regiones cálidas y húmedas. Sin embargo, recientemente se ha probado que este puede habitar en las zonas templadas del mundo. En Alemania, después de las nevadas con el deshielo se han reportado brotes de hemoncosis en rebaños ovinos. En los climas tropicales, las altas temperaturas y alta humedad relativa son factores asociados a la prevalencia de este parásito. En Yucatán los trabajos de Torres-Acosta *et al.* (2004, 2006) mostraron que durante la época de lluvia las infecciones con NGI (incluyendo a *H. contortus*) fueron significativamente superiores comparado a la época de seca.

2.8. Patogenicidad de *H. contortus*

H. contortus se aloja en el abomaso. Se alimenta de sangre que obtiene al cortar las paredes del abomaso. En la fase adulta, este parásito se caracteriza por su carácter hematófago, provocando en los animales cuadros de anemia. Se calcula que un adulto puede ingerir 0.05 ml de sangre al día (Bowman, 2011). Las lesiones en el estómago producidas por los nematodos, alteran la funcionalidad de las glándulas. Esto disminuye la producción de ácido clorhídrico, elevando el pH gástrico e impidiendo la activación del pepsinógeno, se reduce la producción de pepsina y la digestión proteica. La infiltración e inflamación de la mucosa altera la continuidad de las uniones desmosómicas entre células epiteliales con el consiguiente pasaje de proteínas hacia la luz de la víscera y eventualmente de pepsinógeno al plasma (Saddiqi *et al.*, 2010). Los disturbios gastrointestinales y los cambios en la conducta ingestiva de los animales propician reducciones en las ganancias de peso durante el crecimiento y durante la lactación de las madres.

2.9. Mecanismos de defensa

El proceso de control y eliminación de NGI en el hospedero se considera complejo, ya que está atribuido a la combinación de la inmunidad celular y la humoral (Balic *et al.*, 2000a; Meeusen *et al.*, 2005). La eficacia del proceso de inmunidad es afectada por factores como: la edad de los animales (Emery *et al.*, 2000), estado fisiológico (Hoste *et al.*, 2005), genética (Terefe *et al.*, 2007) y condiciones ambientales (O'Connor *et al.*, 2006, 2007). Las principales funciones del sistema inmune son: controlar el establecimiento inicial de las larvas y regular la tasa de crecimiento de los parásitos (Tizard, 2008). En los animales se pueden diferenciar dos tipos de resistencia frente a las parasitosis; una de ellas es la respuesta innata, determinada por características estructurales, bioquímicas o fisiológicas del hospedador, que son capaces de evitar la implantación o maduración del parásito (De Veer *et al.*, 2007). La respuesta inmune adaptativa es un mecanismo de defensa más evolucionado que la inmunidad innata. En esta la respuesta es específica del antígeno reconocido y se desarrolla una memoria inmunológica (Meeusen *et al.*, 2005). La respuesta inmune adaptativa se activa cuando los patógenos han superado las barreras de la inmunidad innata y han penetrado en el organismo. Esta respuesta tarda varios días en establecerse, el tiempo indispensable para que el hospedador reconozca el antígeno y pueda producir la diferenciación de los linfocitos T y B en células efectoras. Los mecanismos efectoros pueden ser específicos como por

ejemplo linfocitos, macrófagos y células dendríticas (Abbas *et al.*, 2002). Para que se inicie esta respuesta es necesario el reconocimiento del antígeno, por parte de los linfocitos y posteriormente su activación (Balic *et al.*, 2000). La activación de los linfocitos B conduce a la síntesis de inmunoglobulinas, mientras que los linfocitos Th o Tc su función en la producción de linfocinas y la lisis celular (Tizard, 2008). Al igual, el hospedero cuenta con mecanismos de defensa inespecíficos como barreras físicas o químicas, células fagocíticas (neutrófilos y macrófagos), mediadores de inflamación, el sistema complemento y citosinas (Meeusen y Balic., 2000).

2.10. Factores que influyen en la respuesta inmune

2.10.1. Edad

Los corderos menores de un año de edad presentan mayor susceptibilidad a las parasitosis (Kassai, 1999; Schallig, 2000), esto se debe a la escasa inmunidad celular que presentan los animales a esta edad, ya que esta tarda en desarrollarse al menos entre cuatro y seis meses en pequeños rumiantes (Greer y Hamie, 2016). Corderos de 3-6 meses de edad adquieren inmunidad en contra de las infecciones parasitarias de una forma más lenta que ovejas de 8 meses de edad (Greer y Hamie, 2016). Los corderos jóvenes expuestos a NGI tienen una menor capacidad para desarrollar una respuesta inmune efectiva, resistir o eliminar las cargas parasitarias (Greer y Hamie, 2016). Los corderos que no desarrollan una respuesta Th2 muestran un número menor de eosinófilos y mastocitos en la mucosa abomasal (Urban *et al.*, 1992; Miller, 1996). La falta de respuesta Th2 puede ser debido a un número menor de LT CD4+, CD8+ y de anticuerpos específicos en corderos comparados con adultos (Colditz *et al.*, 1996).

2.10.2. Sexo

Con relación al sexo de los animales se ha demostrado que los machos enteros son más sensibles a las infecciones con NGI. Esto como resultado del efecto negativo que tiene la testosterona sobre la inmunidad de los animales (Torres-Acosta y Aguilar-Caballero, 2005b). Los machos de los rumiantes son más susceptibles que las hembras a los NGI (Asanji, 1988; Mandonnet *et al.*, 2003), lo que se manifiesta en mayores cargas parasitarias (Gaully *et al.*, 2006).

2.10.3. Especie y Raza

Entre las especies que hospedan a los NGI, el caprino presenta una mayor susceptibilidad que el ovino frente a la infección por NGI, esto se refleja en distintos parámetros inmunológicos y parasitológicos (Huntley *et al.*, 1995, Hoste *et al.*, 2008). Las cabras, en particular, muestran dificultad para establecer una respuesta inmunitaria protectora tras inoculaciones repetidas de L3 de *H. contortus* y *T. circumcincta*, a diferencia de lo que ocurre en las ovejas (González, 2002). La variación genética de la resistencia a los NGI entre y dentro de razas es una herramienta útil para la selección de razas de ovinos resistente, esta se está utilizando en programas de mejoramiento genético principalmente en Australia y Nueva Zelanda (Gray, 1997; Hooda *et al.*, 1999). Se han reportado variaciones importantes en la resistencia a NGI entre diferentes razas ovinas; razas de pelo como la Red Massai (Preston y Allonby, 1979), Pelibuey, Saint Croix, Barbados Blackbelly y Navajo (Courtney *et al.*, 1985), presentan mayor resistencia a los NGI que las razas europeas.

2.10.4. Nutrición

La respuesta inmune del hospedador eleva los requerimientos nutricionales, modifica la distribución de los recursos (Coop *et al.*, 1999). En los casos con anorexia la baja disponibilidad de recursos nutricionales se exagera y explica las pérdidas de peso y producción en general (Colditz, 2008; Greer *et al.*, 2008). El desarrollo de la inmunidad es dependiente de nutrientes de naturaleza proteica (Colditz, 2002). La inflamación, la producción de moco, los leucocitos globulares, mastocitos y eosinófilos como respuesta inmune ocurren en forma localizada y sistémica en presencia o por daño ocasionado por los NGI cuando parasitan al hospedero (Colditz, 2002). Estas respuestas modifican la dirección del aprovechamiento de los nutrientes en el organismo del animal. El moco es rico en treonina, serina y prolina. Un incremento en la secreción de moco reduce la disponibilidad de esos aminoácidos para otras funciones del organismo del animal. La producción de mediadores inmunológicos como las citocinas proinflamatorias y los leucotrienos requieren de grandes cantidades de aminoácidos azufrados y glutamina, afectando negativamente la disponibilidad de estos nutrientes (Colditz, 2002).

2.11. Inmunidad innata frente a parásitos

La inmunidad innata comprende una serie de mecanismos celulares y moleculares, presentes antes del encuentro con el agente patógeno, de modo previo a la aparición de la respuesta

adaptativa (Gutiérrez-Pabellón, 2010). Estos mecanismos pueden reconocer los antígenos sin gran capacidad de discriminación, es decir, con independencia del tipo de antígeno identificado, aunque no parecen estar capacitados para desarrollar memoria inmunológica (De Veer *et al.*, 2007). Una serie de barreras externas físicas, químicas o biológicas previenen la entrada del agente infeccioso o parasitario; una vez que éste ha burlado estas barreras, y ha entrado en el organismo, intervienen células y factores solubles. Estos mecanismos consisten principalmente en el proceso de fagocitosis, en la activación del sistema de complemento y del sistema de cininas y en la generación de la respuesta inflamatoria (Gutiérrez-Pabellón, 2010).

2.12. Inmunidad adaptativa frente a parásitos

La inmunidad adaptativa es un mecanismo de defensa que los animales manifiestan por exposición continua a un antígeno (De Veer *et al.*, 2007). La eficacia de la respuesta es mayor en los animales adultos comparado con los corderos (McClure *et al.*, 2009). En los corderos se requiere al menos 6-12 semanas de exposición continua a los NGI para poder desarrollar inmunidad contra los NGI (Balic *et al.*, 2000; 2002). La inmunidad adaptativa presenta una reacción eficaz que involucra dos tipos de célula los linfocitos T (inmunidad celular) y los linfocitos B (inmunidad humoral). Independientemente del tipo de mecanismo, su desarrollo se divide en tres fases: reconocimiento del antígeno, activación de los linfocitos y respuesta efectora. Conforme se desarrolla la respuesta inmune protectora, los animales desarrollan las siguientes habilidades: 1) eliminación de las larvas ingeridas (de 5 a 7 semanas de exposición continua), 2) reducción de la fecundidad de las hembras parásitas (10-12 semanas de exposición) y 3) expulsión de parásitos adultos (después de 16-20 semanas) (Balic *et al.*, 2000).

2.13. Respuesta inmunitaria contra nematodos

En condiciones óptimas, el ganado ovino es capaz de responder de forma adecuada a las parasitosis por *tricostrongilidos*, eliminando la infección patente o bien adquiriendo una respuesta inmune de memoria capaz de evitar reinfecciones. La inducción de la respuesta inmune contra NGI depende del patrón de citocinas expresadas durante las infecciones (Urban *et al.*, 1992). La respuesta inmune del hospedero a infecciones por NGI se caracteriza por ser de tipo TH1 y TH2 (Meeusen *et al.*, 2005). La respuesta Th1 produce las citocinas IFN- γ , IL-2 (Khan y Collins 2004). La respuesta Th1 se asocia a la inmunidad contra virus y

bacterias y cuando se presenta en las infecciones con NGI los animales muestran sensibilidad a las infecciones. Las citoquinas producidas por Th1 promueven las respuestas citotóxica y la activación de macrófagos, mecanismos importantes en la defensa contra patógenos intracelulares (Tizard, 2008). La respuesta Th2 produce las citocinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 (Grencis, 1997). La resistencia a infecciones por helmintos es claramente dependiente de una respuesta Th2, con liberación de citoquinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) estas producen el reclutamiento y liberación de mastocitos y eosinófilos en la mucosa digestiva (Meeusen y Balic., 2000).

2.14. Inmunidad humoral

La inmunidad humoral es un tipo de respuesta adquirida que esta mediada por linfocitos B y anticuerpos. Las inmunoglobulinas son anticuerpos presentes en la membrana de los linfocitos B o que pueden ser secretados por estas. Las inmunoglobulinas IgA, IgG e IgE, representan a la respuesta inmune humoral en contra de las infecciones de NGI (Gill *et al.*, 1993). Cuando los anticuerpos alcanzan el torrente sanguíneo, estos se dirigen a los tejidos lesionados para unirse a los antígenos de excreción y secreción del parásito, y formar complejos antígeno- anticuerpo. Las infecciones parasitarias se han asociado al incremento de los niveles de IgE en rumiantes (Shaw *et al.*, 2009). En ovinos y cabras infectados con NGI, se han encontrado altos niveles de IgE y eosinófilos (Kataria *et al.*, 2007) otros autores han demostrado una influencia de IgA en la respuesta inmune en contra de *H. contortus* (Amarante *et al.*, 2005) y *T. columbriformis* (Pernthaner *et al.*, 2006).

2.15. Inmunidad Celular

Las infecciones por *H. contortus* provocan en los animales un incremento en la proliferación de linfocitos en sangre y en los tejidos afectados. Los linfocitos tienen un papel importante en la expresión de la inmunidad del hospedero en contra de los NGI (Torgerson y Lloyd., 1992). Estas células son los mediadores de la inmunidad celular. La inmunidad en contra de parásitos en ovinos se caracteriza por la estimulación de una respuesta de tipo Th2 (Tizard, 2008, Lacroux *et al.*, 2006). Varios estudios demuestran el papel de estas células en contra de los NGI (Gill *et al.*, 1993; Balic *et al.*, 2002) esta respuesta provoca un incremento en los niveles de citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 (Meeusen *et al.*, 2005). Estas citocinas juegan un papel importante en contra de las infecciones contra NGI. Se ha demostrado la participación de los linfocitos CD4 en infecciones experimentales de *H. contortus*, y la neutralización de estas

células por medio de anticuerpos monoclonales mostraron una disminución en la inmunidad del hospedero y un aumento en las cuentas de HPG de *H. contortus* (Gill *et al.*, 1993). La inmunidad por parte de las células se expresa en los mastocitos celulares, eosinófilos periféricos y titulares y los leucocitos globulares (De Veer *et al.*, 2007). Los mastocitos celulares son reconocidos como la línea celular de importancia para la expulsión de los NGI en ovinos (Huntley *et al.*, 1995; Macaldowie *et al.*, 2003). Estas células contienen gránulos llenos de histamina, heparina y proteasas. Cuando se activan secretan citocinas como IL-4 y IL-5, leucotrienos y otros compuestos químotácticos que matan a los NGI. Los eosinófilos son células que se infiltran en los tejidos infectados con NGI. Estos contienen gránulos llenos de proteínas catiónicas, citocinas pro-inflamatorias y mediadores lípidos. Los tejidos dañados son el mejor estimulante de atracción para los eosinófilos, así como, la histamina secretada por los mastocitos celulares (De Veer *et al.*, 2007). La inmunidad inata contra de NGI se encargan de evitar el establecimiento de las larvas (Balic *et al.*, 2000). Cuando las larvas llegan a la mucosa gastrointestinal los eosinófilos se aglutinan y rodean a las larvas L3 para lesionar la cutícula de las mismas ocasionando así su muerte (Balic *et al.*, 2006). La acción efectora de estas células inicia una vez que han sido reclutadas en el foco de infección y los receptores presentes en su membrana, se unen a los parásitos cubiertos por IgE. Los leucocitos globulares son considerados como mastocitos celulares que han liberado sus gránulos como resultado de la agresión hacia los NGI. En las ovejas se ha reportado correlación negativa entre la cuenta de leucocitos globulares y la carga parasitaria adulta. Estas células se reconocen como las encargadas de eliminar a los NGI en su fase adulta (McClure *et al.*, 2000).

2.16. Métodos de control de nematodos gastrointestinales

2.16.1. Tratamiento antihelmíntico

El tratamiento y control de los nematodos en los rumiantes recae en el uso de compuestos químicos conocidos como antihelmínticos en combinación con determinadas medidas de manejo en el pastoreo que reduzcan el riesgo de posibles infecciones.

Los antihelmínticos utilizados para controlar a los NGI son clasificados según su modo de acción y se agrupan en tres familias principales de antihelmínticos de amplio espectro. Los bencimidazoles, imidasotiazoles y las lactonas macrocíclicas son los compuestos más utilizados para el control de NGI (Zajac, 2006). Recientemente salió al mercado Europeo un

antihelmíntico llamada monenpantel (Mederos *et al.*, 2014). Sin embargo, una limitante de estos productos es la aparición de cepas de NGI resistentes a estas farmaco (Torres-Acosta *et al.*, 2012; Mederos *et al.*, 2014)

2.16.2. Métodos alternativos para el control de nematodos gastrointestinales

Ante la problemática que ha generado la resistencia parasitaria en contra de los antihelmínticos se han desarrollado métodos alternativos de control contra los NGI, tales como, agujas de óxido de cobre, suplementación alimenticia, hongos nematófagos, metabolitos secundarios y la inmunización a través de vacunas (Aguilar Caballero *et al.*, 2005; Knox, 2000; Martínez-Ortiz-de-Montellano, 2010; Soto-Barrientos *et al.*, 2011). Estos métodos descansan sobre tres principios: a) aquellos que aumenten la resistencia del hospedero, b) los que agoten la fuente de contaminación, y c) los que eliminen a los nemátodos (Hoste, H. y Chartier, C., 1997). Smith y Zarlenga (2006) sugirieron que la vacunación contra NGI debe de considerarse más como una herramienta epidemiológica para mantener bajos niveles de contaminación de pastos que como una herramienta para suprimir las infecciones en los animales.

2.16.3. Vacunación

Debido al éxito alcanzado por el desarrollo de vacunas en contra de virus y bacterias, se ha impulsado la búsqueda de antígenos que generen una respuesta inmune en contra de los NGI. Un claro ejemplo de esto es la vacuna viva irradiada contra *Dictyocaulus viviparus* nematodo pulmonar del ganado bovino (Jarrett *et al.*, 1960). Esto estimuló el desarrollo de nuevas investigaciones para la generación de vacunas contra de otros NGI de la familia Trichostrongylidae.

Se han estado probando nuevos métodos de inmunización en contra de *H. contortus* para poder mejorar los indicadores de salud y de producción de los animales. En esta especie la inmunización se basa en tres principios que son: larvas irradiadas, antígenos naturales del parásito y de antígenos ocultos (Hernández-Barral, 2011).

2.16.3.1. Larvas irradiadas

Estas vacunas Implican el uso de algún estadio larvario del parásito en su forma atenuada. La atenuación se logra a través de la radiación ionizante de rayos X, rayos gamma o incluso el uso de luz ultravioleta. La inmunización de ovinos con larvas atenuadas de *H. contortus*

ha obtenido resultados positivos en animales adultos (Smith y Christie, 1979; Stear *et al.*, 1999).

Por otra parte, la complejidad del mantenimiento de las cepas de parásitos impide disponer de un número elevado de larvas, la dificultad para alcanzar niveles reproducibles de atenuación y a la rápida caducidad de las vacunas, hace difícil su comercialización (Meeusen y Piedrafita, 2003).

2.16.3.2. Antígenos naturales

Los antígenos naturales son reconocidos serológicamente durante la infección parasitaria, estos incluyen antígenos excretados o secretados por el parásito y antígenos somáticos. Este tipo de vacuna puede ser eficaz en contra de nematodos que se alimentan con sangre, así como los que no se alimentan de sangre (Newton y Meeusen, 2003).

Se han conseguido buenos resultados en la inmunización con vacunas constituidas por productos de excreción-secreción (E/S) así como con productos de proteínas somáticas. Los productos de E/S incluyen enzimas como acetilcolinesterasas, superóxido dismutasas, proteasas, inhibidores de proteasas, anti-oxidantes y moléculas homólogas a las citoquinas de mamíferos, necesarias para el control de la actividad motora del nematodo, la evasión de la respuesta inmunitaria, la penetración de la mucosa y la alimentación del parásito (Trap y Boireau, 2000; Knox y Redmond, 2006). Vervelde *et al.*, (2001) inmunizaron a ovejas de 9, 6 y 3 meses de edad con antígenos excretados-secretados de L4 y larvas adultas de 15 y 24 kD. Esta inmunización logro una reducción de 82 y 77 % de las cargas de gusanos adultos en los animales de 9 y 6 meses de edad, pero no se encontró una reducción significativa de las cargas de gusanos en los animales de 3 meses en comparación con el grupo control (34% más que el control) la protección contra las infecciones parasitarias se correlacionó con los niveles significativamente altos de anticuerpos IgG, IgA e IgE y con la presencia de mastocitos en la abomasal. En otro estudio se utilizó como antígeno proteínas somáticas de L3 de 70-83 kDa. La inmunización con este antígeno indujo la reducción de las cargas de gusanos adultos en un 45-55% y una reducción en la excreción de HPG en un 64-69% (Jacobs *et al.*, 1999). Aunque se han identificado gran cantidad de estos productos somáticos o de E/S, no se ha logrado encontrar ninguna proteína que, de forma aislada, sea capaz de inducir una respuesta inmune protectora (Yatsuda *et al.*, 2003).

2.16.3.3. Vacunas recombinantes

Se han hecho muchos intentos para producir antígenos recombinantes mediante el uso de la biología molecular (ADN recombinante). Uno de los antígenos recombinantes que ha demostrado éxito, fue una vacuna que utilizaba el antígeno a partir de la glicoproteína Bm 86 de las microvellosidades intestinales de *Boophilus microplus* presente en las garrapatas adultas de esta especie (Willadsen *et al.*, 1988). Esta vacuna ha abierto las puertas a nuevas investigaciones en contra de nematodos NGI en pequeños rumiantes especialmente con antígenos ocultos clonados de *H. contortus*, lamentablemente los resultados no fueron los esperados. Se ha probado la inmunización de corderos de 6 a 8 meses de edad con la glicoproteína β -Galactsa de 35 KDa considerada como una parte del complejo H-gal-GP, esta inmunización no indujo ninguna respuesta de anticuerpos detectables, ni redujo significativamente las cargas de HPG y ni de larvas (Newlands *et al.*, 1999). La reproducción de la glicoproteína H11 se piensa que esta desempeña un papel fundamental en la destrucción de péptidos producidos por digestión de proteína alimenticia. La reproducción de H11 suscitó un alto nivel de anticuerpos, pero sin reducción significativa de HPG de NGI (Smith *et al.*, 1999). Los intentos de producir proteína H11 recombinante a gran escala han ofrecido algunos inconvenientes ya que, es posible obtener un alto nivel de anticuerpos que reaccionan contra la proteína nativa y la recombinante y así bloquear la actividad enzimática de la proteína, in vitro estos antígenos no protegen a los animales desafiados con *H. contortus* o lo hace en forma parcial, dependiendo del sistema de expresión utilizado (Newton y Meeusen, 2003).

2.16.3.4. Antígenos ocultos

Estas vacunas están basadas en que en una infección natural de NGI estas moléculas no son reconocidas por el sistema inmune del hospedador, ya que estos antígenos no están en contacto con el sistema inmune del hospedero, este tipo de antígenos son adecuados en inmunizaciones frente a parásitos hematófagos como *H. contortus*. Debido a la difícil accesibilidad por parte del sistema inmune se necesitan subsecuentes inmunizaciones con estos antígenos para lograr mantener el nivel de protección, ya que la inmunidad que confieren estos antígenos no se estimula durante las infecciones naturales, como en el caso de la vacunación con antígenos naturales (Miller y Horohov, 2006). Muchos de los antígenos más efectivos identificados hasta hoy han sido aislados del intestino de *H. contortus*. Se han

logrado buenos resultados en corderos inmunizados con antígenos ocultos, con las glicoproteínas H11 y H-gal-GP (Knox *et al.*, 2003). Las inmunizaciones con estas glicoproteínas mostraron una protección sustancial contra *H. contortus* (Smith *et al.*, 2001). Estos resultados sugieren que estas proteasas y glicoproteínas están relacionadas con la digestión de la sangre consumida por el *H. contortus*. Cuando éstos son inyectados en un animal, se estimula la producción de anticuerpos que circulan por la sangre y, al ser ingeridos por los parásitos hematófagos, estos anticuerpos se adhieren al intestino y bloquean los procesos digestivos, debilitándolos y disminuyendo su reproducción y viabilidad.

Se demostró por primera vez el potencial de estos tipos de antígenos a través del uso del antígeno oculto llamado “Contortin”. Este antígeno se encuentra presente en las microvellosidades del intestino de L4 y adultos de *H. contortus*. Este antígeno proporciona protección a los corderos inmunizados y reduce las cargas de HPG en un 75% (Munn *et al.*, 1987).

2.16.3.4.1. Antígeno H11

Esta es una glicoproteína integral de membrana localizada en las microvellosidades del intestino de *H. contortus*, con actividad aminopeptídica. Esta proteína es capaz de promover un alto grado de protección en corderos y hembras preñadas, además de ser efectiva contra cepas de *H. contortus* resistentes a antiparasitarios (Newton y Munn, 1999). Una forma pura de H11 produjo aproximadamente una reducción del 95% en la excreción de HPG de *H. contortus*, al igual redujo el número de larvas machos y hembras en un 86.5% y el 93.5% respectivamente (Smith *et al.*, 1993). El efecto protector comienza tan pronto como los gusanos comienzan a ingerir la sangre (Smith y Smith, 1994). Las larvas hembras son más susceptibles a la inmunización que los machos y el nivel de protección correlacionada con el anticuerpo del suero H11 (Munn *et al.*, 1993a, b;) Se ha demostrado que la protección que confiere este antígeno persiste por alrededor de 23 semanas y puede ser transferida a las crías a través del calostro (Andrews *et al.*, 1997), lo que indica que esta inmunización se encuentra mediada por anticuerpos.

2.16.3.4.2. Antígeno H-gal-GP

El complejo H-gal-GP (*Haemonchus* galactose-containing glycoprotein complex), también es capaz de inducir altos niveles de protección. Este complejo proteico está formado por moléculas de pesos moleculares variados y actividad enzimática principalmente de proteasa

aspártica (degrada rápidamente hemoglobina *in vitro*) y metaloproteasa neutra (Smith *et al.*, 1999).

2.16.4.3. Vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP)

La vacuna con 5µg de H11 y H-Gal-GP es una nueva opción para el control de *H. contortus*, esta puede ayudar a reducir las cargas de HPG, la contaminación de pastos y evitar el desarrollo de las fases adultas del parásito. La vacuna ha sido desarrollada a través de la colaboración del Instituto de Investigación Moredun, Edimburgo, Escocia y el laboratorio del Departamento de Agricultura y Alimentación de Albany, Australia Occidental. La vacuna se basa en el uso de las glicoproteínas H11 y H-gal-GP como antígenos. El antígeno es formulado con adyuvante a base de saponinas (Quil A) (Smith *et al.*, 1999). Cada dosis contiene 5 µg antígeno purificado formulado con 1mg saponina, como adyuvante. La vacuna tiene una vida útil de dos años. La vacuna con 5µg de H11 y H-Gal-GP tiene una actividad más prolongada a diferencia de las nuevas familias de antihelmínticos presentes en el mercado. Se ha demostrado que esta vacuna puede ser eficaz en contra de cepas de parásitos resistentes a las distintas familias antihelmínticas (Andrews *et al.*, 1997).

En distintos protocolos se ha evaluado la inmunización contra *H. contortus* a través del uso de esta vacuna, estos han obtenido resultados favorables, ya que se ha demostrado una reducción en la cantidad de HPG de NGI en un 65 al 82% en los animales inmunizados, así como una disminución en el nivel de anemia y una menor infección parasitaria de los pastos (Cuadro 1.) (Kabagambe *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2001; LeJambre *et al.*, 2008; Bassetto *et al.*, 2014). Al igual se ha demostrado un aumento en el nivel de anticuerpos IgG circulantes en sangre que se correlacionan con la protección del animal en contra de los NGI (Le Jambre *et al.*, 2008)

Cuadro 1. Pruebas de eficacia de la vacuna de antígenos ocultos en diferentes países del mundo

PAÍS	RAZA	NUMERO DE APLICACIONES	INTERVALO ENTRE APLICACIONES	DURACIÓN DEL ESTUDIO EN SEMANAS	REDUCCION DE LAS CUENTAS DE HPG	AUTOR
E.U.A.	Suffolk	2	3	12	65%	<i>Kabagambe et al.,2000</i>
Sudáfrica	Dorper	5	3	12	82%	<i>Smith et al.,2001</i>
Australia	Merino	4	5-7	25	80%	<i>Le Jambre et al., 2008</i>
Brasil	Bergamasca	6	3	27	78%	<i>Bassetto et al.,2014</i>

3.1. Objetivo general

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP), sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de *Haemonchus contortus*, el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre (EP), el nivel de IgG en sangre, el hematocrito (Ht) y la ganancia de peso (GDP) en corderas Pelibuey bajo pastoreo durante la época de lluvia en el trópico subhúmedo de México.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de NGI en corderas Pelibuey en pastoreo en el trópico subhúmedo de México.
- Comparar los parámetros fenotípicos ganancia de peso y hematocrito en corderas Pelibuey vacunados y no vacunados con una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) en el trópico subhúmedo de Yucatán.
- Comparar la respuesta en los niveles de IgG en contra de *H. contortus* y el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre entre corderas vacunadas y no vacunadas con una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) en el trópico subhúmedo de Yucatán.

4. Hipótesis

La vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) reduce la excreción de huevos de *H. contortus* en heces y reduce los efectos negativos de estos parásitos sobre los indicadores de salud y producción en corderas Pelibuey infectados naturalmente con *H. contortus* en el trópico de Yucatán.

5. Bibliografía

- Abbas, Abul k., Andrew H. Lchtman, Jordan S. Pober. 2002. *Inmunología celular y molecular*. Cuarta edición.
- Andrews, S.J., Rolph, T.P., Munn, E.A. 1997. Duration of protective immunity against ovine haemonchosis following vaccination with the nematode gut membrane antigen H11. *Res Vet Sci*. 62: 223-227.
- Aguilar Caballero, A.J., Torres Acosta, J.F., Hoste, H., Sandoval Castro, C., López Flores, M. 2005. Effect of supplementary feeding with energy and/or protein on the resilience and resistance of criollo kids against *Haemonchus contortus*. Congress of Novel Approaches to the control of helminth parasites of livestock. Worm Control or worm management: new paradigms in integrated control. Mérida, Yucatán, México. p. 29.
- Aguilar, A. J., Cámara, R., Torres, J. F., y Sandoval, C. 2011. El control de los nematodos gastrointestinales en caprinos: ¿dónde estamos? *Bioagrobiencias*. 4(2): 10–16.
- Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., Huntley, J.F., Mazzolin, L.P., Gomes, J.C. 2005 Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin A with the resistance to *Hamonchus contortus* infection in three breeds of sheep. *Vet. Parasitol*. 128: 99-107
- Asanji M.F. 1988. Haemonchosis in sheep and goats in Sierra Leone. *J Helminthol*. 62: 243-9.
- Balic A.; Bowles, V.M. and Meeusen, E.N.T. 2000. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Adv. Parasitol*. 45: 181–241.
- Balic, A., Bowles, V.M. Meeusen, E.N.T. 2002. Mechanisms of immunity to *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Parasite Immunol*. 24: 39-46.
- Balic, A., Cunningham, C.P., Meeusen, E.N.T. 2006. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. *Parasite Immunol*. 28: 107–115.
- Bassetto, C.C., Picharillo, M. É., Newlands, G. F. J., Smith, W. D. Fernandes, S., Siqueira, E. R., & Amarante, A. F. T., 2014. Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural

infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. *Int J Parasitol.* 44(14): 1049–1054.

Bowman, D.D. 2011. *Georgis Parasitología para veterinarios*; Ed. Elsevier. Novena edición. Pp 155-157.

Cordero del Campillo M. y Rojo Vázquez, Francisco A. 2000. *Parasitología Veterinaria*. Retrieved from. Pp. 238-246.

Colditz, I.G., Watson, D.L., Gray, G.D., Eady, S.J. 1996. Some relationships between age, immune responsiveness and resistance to parasites in ruminants. *Int J Parasitol.* 26: 869-877.

Colditz, I.G. 2002. Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. *Livestock Prod. Sci.* 75: 257-268.

Colditz I.G. 2008. Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunol.* 30, 63-70

Courtney, C. H., Parker C. F., McClure K. E. y Herd R. P. 1985. Resistance of exotic and domestic lambs to experimental infection with *Haemonchus contortus*. *Int J Parasitol.*15: 101-109.

Coop R.L. y Kyriazakis I. 1999. Nutrition–parasite interaction. *Vet Parasitol.* 84: 187–204.

De Veer M.J., Kemp, J.M., Meeusen, E.N.T. 2007. The innate host defence against nematode parasites. *Parasite Immunol.* 29: 1-9.

Emery D. L., McClure, S. J. y Davey R. J. 2000. Protection of Merino lambs against *Haemonchus contortus* by trickle infection of neonates. *Parasitol. Int.* 49: 165- 170.

Gauly M., Schackert M., Hoffmann B., Erhardt G. 2006. Influence of sex on the resistance of sheep lambs to an experimental *Haemonchus contortus* infection. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 113: 178-81

Gray G. D. 1997. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. *Vet. Parasitol.* 72: 345-366.

Gill H. S., Watson, D. L., Brandon M. R. 1993. Monoclonal antibody to CD4- T cells abrogates genetic resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Immunol.* 78: 43-49.

González J.F. 2002. Respuesta inmune celular y humoral en la Ostertagiosis experimental caprina. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

González-Garduño, R., Torres-Hernández, G., Nuncio-Ochoa, M.G.J., Cuéllar-Ordaz, J. A, y Zermeño-García, M.E. 2003. Detección de eficiencia antihelmíntica en nemátodos de ovinos de pelo con la prueba de reducción de huevos en heces. *Livestock Research Rural Development*. 15(12): 1-10

Gómez Muñoz, M. T. 2002. Respuesta inmunitaria de algunas razas ovinas españolas a *Haemonchus contortus* : Purificación y evaluación de un antígeno diagnóstico. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones, Madrid. Retrieved.

Greer A.W., Huntley J.F., Mackellar A., McAnulty R.W., Jay N.P., Green R.S., Stankiewicz M., Sykes A.R. 2008. The effect of corticosteroid treatment on local immune responses, intake and performance in lambs infected with *Teladorsagia circumcincta*. *Int J Parasitol.*, 38: 1717-28.

Greer A.W· Hamie J.C. 2016. Relative maturity and the development of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep: An overlooked paradigm?. *Parasite Immunol.* 38: 263–272.

Grencis, R.K. 1997. Th2-mediated host protective immunity to intestinal nematode infections. *Phil. Transact. Royal. Soc. London, Series B: Biol Sci.* 352: 1377-1389.

Gutierrez-Pabellon, J.A. 2010. *Inmunología Veterinaria. Manual Moderno.* 1^a ed. México DF. Pag 37.

Hernández-Barral, Á. 2011. Estudio de la respuesta inmune frente a *Haemonchus Contortus* en dos razas ovinas canarias. Tesis de Doctorado

Hooda, V., Yadav C. L., Chaudri S. S., y Rajpurohit B. S. 1999. Variation in resistance to haemonchosis: selection of female sheep resistant to *Haemonchus contortus*. *J. Helminthology* 73 : 137-142.

Hoste, H., Chartier, C. 1997. Perspectives de lutte contre les strongyloses gastrointestinales. *Le Point Vétérinaire.*, 28(181): 1187.

Hoste, H., Torres-Acosta, J. F., Paolini, V., Aguilar-Caballero, A. J., Etter, E., Lefrileux, Y., Chartier C., y Broqua, C. 2005. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small. Rumin. Res.* 60: 141-151.

Hoste H., Torres Acosta J.F.J., Aguilar Caballero A.J. 2008. Nutrition–parasite interactions in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? *Parasite Immunol.* 30: 79-88

Huntley J.F., Patterson M., Mackellar A., Jackson F., Stevenson L.M., Coop R.L. 1995. A comparison of the mast cell and eosinophil responses of sheep and goats to gastrointestinal nematode infections. *Res Vet Sci.* 58: 5-10

Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M. N., y Afaq, M. 2006. Anthelmintic resistance: the state of play revisited. *Life Sciences.* 79(26), 2413–2431.

Jacobs, H. J.; Wiltshire, C.; Ashman, K. y Meeusen E. N. T. 1999. Vaccination against the gastrointestinal nematode, *Haemonchus contortus*, using a purified larval surface antigen. *Vaccine.* 17: 362-368.

Jarrett W.F.H., Jennings F.W., Mcintyre W.I.M., Mulligan W., Urquhart G.M. 1960. Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection. Immunity produced by the administration of irradiated larvae. *Immunology.* 3(2): 145–151.

Kabagambe, E.K., Barras, S.R., Li, Y., Peña, M.T., Smith, W.D., Miller, J.E. 2000 Attempts to control haemonchosis in grazing ewes by vaccination with gut membrane proteins of the parasite. *Vet. Parasitol.* 92: 15–23.

Kassai T. 1999. *Veterinary Helminthology.* Oxford: Butterworth-Heinemann.

Kataria, A.K. ., Kataria, N., Gahlot, A.K. 2007. Radioimmunometric quantification of serum IgE of small ruminants naturally infected with gastrointestinal worms. *Indian J. Anim. Sci.* 77: 136-138.

Khan W.I, Collins S.M. 2004. Immune-mediated alteration in gut physiology and its role in host defence in nematode infection. *Parasite Immunol.* 26: 319-326.

Knox D.P., Redmond D.L., Newlands G.F., Skuce P.J., Pettit D., Smith W. D. 2003. The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids. *Int J Parasitol.* 33: 1129–1137

Knox D.P., Redmond D.L. 2006. Parasite vaccines recent progress and problems associated with their development. *Parasitology.* 133: 1-8.

Knox D. P. y Smith W. D. 2001. Vaccination against gastrointestinal nematode parasites of ruminants using gut-expressed antigens. *Vet. Parasitol.* 100(1-2): 21–32.

Knox M. R., Torres-Acosta J. F. J., Aguilar-Caballero A. J. 2006. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 139(4) : 385–393.

Lacroux, C., Nguyen, T.H.C., Andreoletti, O., Pre´ vot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.P., Gruner, L., Brunel, J.C., Francois, D., Dorchies, P., Jacquet, P., 2006. *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Vet Res.* 37: 607–622.

Le Jambre L. F., Gray, G. D., y Klei, T. R. 1999. Workshop on irradiated larval vaccines. *Int. J. Parasitol.* 29(1): 193–198.

LeJambre, L. F., Windon, R. G., y Smith, W. D. 2008. Vaccination against *Haemonchus contortus*: Performance of native parasite gut membrane glycoproteins in Merino lambs grazing contaminated pasture. *Vet. Parasitol.* 153(3–4): 302–312.

Lindqvist, A., Ljungström, B. L., Nilsson, O., y Waller, P. J. 2001. The dynamics, prevalence and impact of nematode infections in organically raised sheep in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 42(3): 377–389.

Macaldowie, C., Jackson, F., Huntley, J., Mackellar., Jackson, E. 2003. A comparison of larval development and mucosal mast cell responses in worm-naïve goat yearlings, kids and lambs undergoing primary and secondary challenge with *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.* 114: 1-13.

Mandonnet N., Ducrocq V., Arquet R., Aumont G. 2003. Mortality of Creole kids during infection with gastrointestinal strongyles: a survival analysis. *J Anim Sci.* 81 : 2401-8

- Martinez-Ortiz-de-Montellano, C. 2010. Mécanismes d'action de plantes riches en tanins sur les nématodes gastrointestinaux adultes des petits ruminants [PhD Thesis]. Retrieved January 9, 2015, from.
- McClure S.J. 2009. Mucosal delivery of native and recombinant protein vaccines against *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol.* 39: 599-606
- McClure S. J., Emery D. L., y Steel J. W. 2000. Host resistance to gastrointestinal parasite of sheep. In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. CABI Publishing, Oxon, U.K. pp. 425-436.
- Mederos, A. E., Ramos, Z., Banchero, G. E. 2014. First report of monepantel haemonchus contortus resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites & Vectors.* 17: 7-598.
- Meeusen E. N. T. y Balic A. 2000 “Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites?”. *Parasitol Today.* 16: 95-101.
- Meeusen, E. N. T., Balic, A. and Bowles, V. 2005. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108: 121–125.
- Meeusen E.N., Piedrafita D. 2003. Exploiting natural immunity to helminth parasites for the development of veterinary vaccines. *Int J Parasitol.* 30;33(11):1285-90.
- Miller, H. R. P. 1996. Prospects for the immunological control of ruminant gastrointestinal nematodes: natural immunity, can it be harnessed? *Int. J. Parasitol.* 26: 801-811.
- Miller J.E., Horohov D.W. 2006. Immunological aspects of nematode control in sheep. *J Anim Sci.* 84: 124-132
- Munn, E.A., Greenwood, C.A. Coadwell, W.J. 1987 Vaccination of young lambs by means of a protein fraction extracted from adult *Haemonchus contortus*. *Parasitology.* 94: 385–397.
- Munn, E.A., Smith, T.S., Graham, M., Greenwood, C.A., Tavernor, A.S. Coetzee, G. 1993a. Vaccination of merino lambs against haemonchosis with membrane associated proteins from the adult parasite. *Parasitology.* 106: 63–66.

- Munn, E.A., Smith, T.S., Graham, M., Tavernor, A.S. y Greenwood, C.A. 1993b. The potential value of integral membrane proteins in the vaccination of lambs against *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 23: 261–269.
- Newlands, G. F.; Skuce, P. J.; Knox, D. P.; Smith, S. K. and Smith, W. D. 1999. Cloning and characterization of a beta-galactoside-binding protein (galectin) from the gut of the gastrointestinal nematode parasite *Haemonchus contortus*. *Parasitol.* 119: 483-490.
- Newton, S.E., Munn, E.A. 1999. The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus*. *Parasitology today.* 15: 116-122.
- Newton, S. E. y Meeusen, E. N. T. 2003. Progress and new technologies for developing vaccines against gastrointestinal nematode parasites of sheep. *Parasite Immunol.* 25: 283–296.
- O'Connor, L. J.; Kahn, L. P. and Walkden-Brown, S. W. 2007. The effects of amount, timing and distribution of simulated rainfall on the development of *Haemonchus contortus* to the infective larval stage. *Vet. Parasitol.* 146: 90-101
- O'Connor, L. J.; Walkden-Brown, S. W. and Kahn, L. P. 2006. Ecology of the freeliving stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.* 142: 1-15.
- Pernthaner, A., Cole, S.A., Morrison, L., Green, R., Shaw, R.J., Hein, W.R. 2006. Cytokine and antibody subclass responses in the intestinal lymph of sheep during repeated experimental infections with the nematode parasite *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 114: 35-148
- Petronijevic, T., Rogers, W. P., Sommerville, R. I. 1985. Carbonic acid as the host signal for the development of parasitic stages of nematodes. *Int. J. Parasitol.* 15(6): 661–667.
- Preston, J. M., and E. W. Allonby. 1979. The influence of breed on the susceptibility of sheep to *Haemonchus contortus* in Kenya. *Res. Vet. Sci.* 26: 134-139.
- Quiroz Romero H, y Figueroa Castillo J.A. 2011. *Epidemiología de Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos* ED. Editorial. Primera edición. Pp. 327- 340.

Quiroz Romero. 2002. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa. Pp 368- 371.

Rogers, W. P. 1982 Enzymes in the exsheathing fluid of nematodes and their biological significance. *International Journal for Parasitology*, 12(6): 495–502.

Saddiqi, H. A., Jabbar, A., Sarwar, M., Iqbal, Z., Muhammad, G., Nisa, M., & Shahzad, A. 2011. Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: a case of *Haemonchus contortus*. *Parasitol Res.* 109(6) : 1483–1500

Sanyal, P. K., Sarkar, A. K., Patel, N. K., Mandal, S. C. y Pal, S. 2008. Formulation of a strategy for the application of *Duddingtonia flagrans* to control caprine parasitic gastroenteritis. *Journal of Helminthology*. 82(2): 169–174.

Schallig H.D.F.H. 2000. Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*. *Parasitology*. 120: S63-72.

Shaw, R., Pfeffer, A., Bischof, R. 2009. Ovine IgE and its role in immunological protection and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*132: 131-40.

Smith, T.S., Munn, E.A., Graham, M., Tavernor, A.S., Greenwood, C.A. 1993. Purification and evaluation of the integral membrane protein H11 as a protective antigen against *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 23: 271-280.

Smith, S. K.; Pettit, D.; Newlands, G. F.; Redmond, D. L.; Skuce, P. J.; Knox, D. P. y Smith, W. D. 1999. Further immunization and biochemical studies with a protective antigen complex from the microvillar membrane of the intestine of *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunol.* 21: 187-199.

Smith, W.D., Smith, S.K. & Murray, J.M. 1994. Protection studies with integral membrane fractions of *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunol.* 16: 231–241.

Smith W.D., Christie M.G. 1979. *Haemonchus contortus*: some factors influencing the degree of resistance of sheep immunized with attenuated larvae. *J Comp Pathol.* 89, 141-150

Smith, W. D., Van Wyk, J. A., y Van Strijp, M. F. 2001. Preliminary observations on the potential of gut membrane proteins of *Haemonchus contortus* as candidate vaccine antigens in sheep on naturally infected pasture. *Vet. Parasitol.* 98(4): 285–297.

Smith, W. D. y Zarlenga, D. S. 2006. Developments and hurdles in generating vaccines for controlling helminth parasites of grazing ruminants. *Vet. Parasitol.* 139: 347–359.

Soto-Barrientos, N., Oliveira, J., Vega-Obando, R., Montero-Caballero, D., Vargas, B., Hernández-Gamboa, J., Orozco-Solano, C. 2011. In-vitro predatory activity of nematophagous fungi from Costa Rica with potential use for controlling sheep and goat parasitic nematodes. *Revista De Biología Tropical*, 59(1): 37–52.

Stear M.J., Strain, S.A.J., Bishop S.C. 1999. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *Int J Parasitol.* 29: 51–56

Terefe, G.; Lacroux, C.; Andreoletti, O.; Grisez, C.; Prevot, F.; Bergeaud, J. P.; Penicaud, J.; Rouillon, P.; Gruner, L.; Brunel, J. C.; Francois, D.; Bouix, J.; Dorchies, P. and Jacquet, P. 2007. Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. *Parasite Immunol.* 29: 415–424.

Tizard, I. 2008. *Inmunología Veterinaria*. 9th Ed. W. B. Saunders, Philadelphia. Pp. 319-325.

Torgerson, P. R. y Lloyd, S. 1992. Lymphocyte reactivity to antigens of *Haemonchus contortus* in antigen-inoculated and *H. contortus*-naive lambs. *Am. J. Vet. Res.* 53:1699-1704.

Torres-Acosta, J. F. J., Jacobs, D. E., Aguilar-Caballero, A., Sandoval-Castro, C., May-Martinez, M. y Cob-Galera, L. A. 2004. The effect of supplementary feeding on the resilience and resistance of browsing Criollo kids against natural gastrointestinal nematode infections during the rainy season in tropical Mexico. *Vet. Parasitol.* 124(3–4): 217–238.

Torres-Acosta, J. F. J., Aguilar-Caballero, A. J., Le Bigot, C., Hoste, H., Canul-Ku, H. L., Santos-Ricalde, R., y Gutiérrez-Segura, I. 2005a. Comparing different formulae to test for gastrointestinal nematode resistance to benzimidazoles in smallholder goat farms in Mexico. *Vet. Parasitol.* 134(3-4): 241–248.

Torres-Acosta, J.F., Aguilar-Caballero, A.J. 2005b. Control, Prevención y erradicación de la nematodiasis gastrointestinal en rumiantes. In: Rodríguez, V.I., Cob, G.L. Enfermedades de importancia económica en mamíferos domésticos. McGraw-Hill. Pp. 161-176.

Torres-Acosta, J. F. J., Jacobs, D. E., Aguilar-Caballero, A. J., Sandoval-Castro, C., Cob-Galera, L. y May-Martínez, M. 2006. Improving resilience against natural gastrointestinal nematode infections in browsing kids during the dry season in tropical Mexico. *Vet. Parasitol.* 135(2): 163–173.

Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J., Cuéllar-Ordaz, J.A. 2012. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Vet. Parasitol.* 189: 89-96.

Trap, C., Boireau, P. 2000. Proteases in helminthic parasites. *Veterinary research.* 31: 461-471.

Urban, J. F.; Madden, K. B. and Svetic, A. 1992. The importance of Th2 cytokines in protective immunity to nematodes. *Immunol. Rev:* 127, 205-220.

Vervelde, L.; Kooyman, F. N.; Van Leeuwen, M. A.; Schallig, H. D.; MacKellar, A.; Huntley, J. F. y Cornelissen, A. W. 2001. Age-related protective immunity after vaccination with *Haemonchus contortus* excretory/secretory proteins. *Parasite Immunol.* 23: 419-423.

Willadsen, P.; McKenna, R. V. y Riding, G. A. 1988. Isolation from the cattle tick *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host. *Int. J. Parasitol.* 18: 183-189.

Yatsuda A.P., Krijgsveld J., Cornelissen A.W.C.A., Heck A.J.R., de Vries E. 2003. Comprehensive analysis of the secreted proteins of the parasite *Haemonchus contortus* reveals extensive sequence variation and differential immune recognition. *J Biol Chem.* 278: 16941–16951

Zajac, A. M. 2006. Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* 22(3): 529–541.

Zajac A. M. y Conboy G. A. 2012. *Veterinary Clinical Parasitology*. Eighth Edition
Editorial Wiley-Blackwel

6. Artículo Científico

Evaluar la respuesta de una vacuna realizada con antígenos ocultos del intestino de NGI adultos (Barbervax) contra *H. Contortus* en corderas pelibuey infectadas naturalmente en el trópico subhúmedo de México.

Cáceres-Mejía, J.A., Torres-Acosta, JFJ., Smith, D., López-Arellano, M.A., Aguilar-Caballero, A.J.

Escrito con el formato de la revista Veterinary Parasitology.

Evaluar la respuesta de una vacuna realizada con antígenos ocultos del intestino de NGI adultos (Barbervax) contra *H. Contortus* en corderas pelibuey infectadas naturalmente en el trópico subhúmedo de México.

Cáceres-Mejía, J.A., Torres-Acosta, JFJ., Smith, D., Lóez-Arellano ME, Aguilar-Caballero, A.J.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán.

E-mail: jcaceres0190@gmail.com.

Resumen.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP), sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de *Haemonchus contortus*, el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre (EP), el nivel de IgG en sangre, el hematocrito (Ht) y la ganancia de peso (GP) en corderas Pelibuey bajo pastoreo durante la época de lluvia en el trópico subhúmedo de México. Se utilizaron 40 corderas Pelibuey de 6 meses de edad criadas libres de nematodos gastrointestinales (NGI) y un peso promedio de 33 ± 4.47 kg. Las corderas fueron distribuidas al azar en dos grupos (n=20): a) Grupo Control sin tratamiento y b) Grupo Vacunado, tratado con 5 µg antígeno purificado (H11 y H-gal-GP)/ animal en los días 0, 21, 42 y 84 del estudio. Las primeras tres inmunizaciones se aplicaron estando las corderas en estabulación. Después de la tercera dosis dio inició el pastoreo (infección natural con NGI) en praderas de pasto *Cynodon nlemfluensis* bajo riego. La última inmunización se realizó 6 semanas después del inicio del pastoreo. A los 58 días después de la última inmunización (día 142 del estudio) 5 animales de cada grupo fueron inoculadas con 7500 larvas L₃ de *H. contortus*/animal. El día 0 del estudio y cada 14 días, las corderas fueron pesadas individualmente y se tomaron muestras de heces, sangre y suero para determinar la cuenta de HPG de NGI, Ht, EP y los niveles de IgG. La vacunación no mostró efecto alguno sobre la GP y Ht. La infección con NGI en los corderos durante el pastoreo fue patente a partir del día 28 del estudio (grupo vacunado = 10 HPG de NGI y grupo control = 27.5 HPG de NGI, P>0.05). La eficacia de la vacunación al reto con *H. contortus* sobre la cuenta de HPG fue de 95% (P<0.05). El porcentaje de EP fue mayor en el grupo vacunado durante todo el estudio (P<0.05), sin embargo, los niveles de IgG fueron similares entre ambos grupos (P>0.05). Se concluye que la inmunización de corderas de pelo bajo pastoreo con 5µg de H11 y H-Gal-GP fue eficaz para el control de *H. contortus*, mejoró

la respuesta eosinofílica, redujo la cuenta de HPG de *H. contortus* ante un reto parasitario, pero no mejoró la ganancia de peso, hematocrito ni el nivel de IgG en corderas Pelibuey en el trópico subhúmedo de México.

Palabras clave: *Haemonchus*, *Vacuna*, Corderas Pelibuey, Eosinofilos, HPG.

1. Introducción

El *Haemonchus contortus* es un nematodo gastrointestinal (NGI) que provoca pérdidas económicas en los pequeños rumiantes por su efectos negativos en la ganancia de peso y por los costos en los tratamientos (Simpraga *et al.*, 2015). Este parásito forma parte de las infecciones mixtas por NGI que los animales adquieren en pastoreo y para su control se utilizan fármacos conocidos como antihelmínticos (AH) (Torres-Acosta *et al.*, 2005). Sin embargo, el manejo irracional de los AH ha propiciado la aparición de cepas de NGI resistentes a las diferentes familias de estos fármacos (Torres-Acosta *et al.*, 2012a; Mederos *et al.*, 2014). Debido a esto se continúa probando diferentes métodos alternativos para el control de los NGI que buscan reducir la dependencia por AH en los rebaños (Simpraga *et al.*, 2015). Un método alternativo es la inmunización mediante vacunas (Knox & Smith, 2001). En años recientes se ha utilizado una vacuna comercial que ha mostrado resultados prometedores (Basseto *et al.*, 2014). Esta fue desarrollada en Escocia por el Moredun Research Institute (Edinburgh, Scotland, UK). Esta vacuna es producida con proteínas “ocultas” del intestino de parásitos *H. contortus* adultos. La vacuna se basa en el uso de las glicoproteínas H11 y H-gal-GP como antígenos. El antígeno es formulado con adyuvante a base de saponinas (Quil A) (Smith *et al.*, 1999). El protocolo de inmunización propuesto es de 4 dosis (Le Jambre *et al.*, 2008). La eficiencia de la inmunización combinada de H11 con H-gal-GP en hembras susceptibles de la raza Suffolk, presentó un 67% de reducción en el conteo de huevos por gramo de heces (HPG) de NGI las ovejas vacunadas (Kabagambe *et al.*, 2000). Estudios más recientes en Australia, donde predomina el clima seco con lluvias estacionales esporádicas, en pasturas naturalmente contaminadas, se observó una reducción del 82 % en HPG de NGI. Este efecto se diluyó luego de un período de lluvias, ocasionando un incremento en la infestación de las pasturas. Sin embargo, la revacunación de las ovejas restauró la inmunidad (Le Jambre *et al.*, 2008). Basseto *et al.* (2014) por su parte, evaluaron la inmunización de borregos Bergamasca con dos dosis de la vacuna (5 or 50 µg) en infecciones naturales con NGI, obteniendo una reducción del 78% en la excreción de HPG

de NGI en ambos protocolos. Estas pruebas se han realizado hasta ahora en animales de razas lanares. Se sabe que las ovejas de razas de pelo muestran un mayor grado de resistencia genética contra los NGI (Saddiqi *et al.*, 2011). Por lo tanto, es importante determinar si la vacunación solo contra *H. contortus* puede mejorar los mecanismos de protección contra los NGI en estas ovejas de pelo de tal manera que se reduzca la eliminación de HPG cuando son expuestos a infecciones mixtas naturales durante el pastoreo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) sobre la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) de *Haemonchus contortus*, el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre (EP), el nivel de IgG en sangre, el hematocrito (Ht) y la ganancia de peso (GDP) en corderas Pelibuey bajo pastoreo durante la época de lluvia en el trópico subhúmedo de México

2. Materiales y Métodos

2.1 Ubicación

El estudio se realizó durante los meses de junio a Noviembre del 2015 en una unidad de producción ovina de ciclo completo (San Alberto), ubicada en Poxilá, Umán, Yucatán, México (latitud: 20.8 y longitud 89.8, INEGI 2014). El clima predominante de la región es cálido subhúmedo con lluvias en verano (Aw0) y la temperatura media anual es de 26°C. La precipitación media estatal es de 1 100 mm anuales. La humedad relativa es de 61%-83% y ocurren dos épocas en el año: seca (noviembre-mayo) y lluvia (junio-noviembre).

2.2 Animales

Se utilizaron 40 corderas Pelibuey de 180 días de edad y un peso promedio de 33 ± 4.47 kg, criados libres de nematodos gastrointestinales desde su nacimiento hasta el inicio de la prueba de acuerdo al protocolo descrito por Torres *et al.*, (2004). Las corderas fueron distribuidos al azar en dos grupos (n = 20): a) Grupo vacunado y b) grupo control. La distribución se logró a través del sorteo de los números de identificación de cada cordera.

2.2.1. Producción de corderos libres de NGI.

Una semana antes del parto, las ovejas madres fueron desparasitadas, al parto y durante la primera semana de lactancia se mantuvieron con sus crías en corrales con piso de concreto. A partir del octavo día las corderas fueron separadas de sus madres y aisladas en corrales con piso de concreto. Las corderas se amamantaban dos veces al día con sus madres o madres nodrizas para garantizar un buen peso de destete. Adicionalmente se les ofrecía alimento concentrado ad libitum hasta los dos meses de edad, cuando ocurría el destete total de los corderos. El día 0 y cada 7 días se tomaron muestras de heces de cada cordera y fueron procesadas a través de la técnica de flotación y McMaster modificada para confirmar que las corderas estaban libres de infecciones con NGI.

2.3 Alojamiento y alimentación.

En el día cero hasta el 42, las corderas fueron alojadas en corrales con piso de concreto y paredes de malla borreguera para evitar el consumo de pasto. Durante este periodo fueron alimentadas con una dieta a base de alimento balanceado para corderas en crecimiento. A partir del día 42 hasta el final del estudio, todos los animales salían a pastorear en las praderas de pasto estrella de África (*Cynodon nlemfluencis*) aledañas a la unidad de producción,

durante 4 horas/día (8:00-12:00). Al retorno a las instalaciones, se ofreció a todos los animales un suplemento alimenticio y agua *ad libitum*.

2.4 Administración de la vacuna

Los animales del grupo Vacunado fueron tratados con la vacuna de antígenos ocultos. Esta vacuna es elaborada por el Instituto de Investigación Moredun, Edimburgo, Escocia y el laboratorio del Departamento de Agricultura y Alimentación de Albany, Australia Occidental. La vacuna se aplicó en el día cero, 21 y 42 previo al pastoreo. Posteriormente, se aplicó una cuarta dosis 6 semanas después del inicio del pastoreo. La dosis fue de 1 ml/animal vía subcutánea. Cada dosis de la vacuna contenía 5 µg de los antígenos. Esta vacuna utiliza como antígenos el H11 y H-gal-GP provenientes de las microvellosidades del intestino de *H. contortus*. La vacuna se mantuvo en refrigeración durante su transporte para asegurar el éxito de la vacunación.

2.5. Obtención de larvas infectivas

Se obtuvieron las larvas L3 de *H. contortus* de una borrega donadora infectada con una cepa mono-específica de *H. contortus* del estado de Yucatán. La borrega se encontraba en una jaula metabólica para evitar el contacto con otros NGI, posteriormente se recolectaron las heces y se realizaron coprocultivos a través de la técnica de Torres-Acosta *et al* (2016) en el laboratorio de parasitología del CCBA-UADY.

2.6 Reto con larvas L₃ de *H. contortus*.

El día 142 del experimento, 5 corderos de cada grupo fueron retados con 7500 larvas L₃ de *H. contortus* por vía oral. 200 L₃/kg de peso vivo (Esteban-Andrés *et al.*, 2013). Las larvas fueron obtenidas de corderos donadores con infección mono-específica. Las larvas tenían una semana de ser producidas y se mantuvieron en sacarosa.

2.7 Mediciones

2.7.1 Cambio de peso vivo. El día cero y cada 14 días los corderas fueron pesados individualmente en una báscula electrónica. Se determinó el cambio de peso vivo a través de la diferencia entre el peso final menos el peso inicial en cada muestreo.

2.7.2 Variables parasitológicas. Se tomaron muestras de heces directamente del recto en bolsas de polietileno y se identificadas de acuerdo al animal correspondientes. Las heces fueron procesadas a través de la técnica de McMaster modificada para determinar el número

de HPG de NGI (Rodríguez-Vivas y Cob-Galera., 2005), en el laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UADY. Para determinar los géneros de larvas presentes durante el estudio se realizaron coprocultivos de cada grupo experimental (Corticelly y Lai, 1963). Las larvas fueron identificadas de acuerdo a Rodríguez vivas *et al.*, 2015.

2.7.3 Variables hematológicas. Se tomaron dos muestras de sangre a través de la vena yugular, una en un tubo de ensayo con EDTA y otra con acelerador de coagulación para obtener suero. En la sangre entera se determinó el porcentaje de Hematocrito (Ht) a través de la técnica de microhematocrito capilar (Benjamín, 1991) y la concentración de eosinófilos periféricos en sangre a través de un conteo diferencial bajo tinción Giemsa (Harvey, 2012).

2.7.3.1 Técnica de ELISA. El antígeno utilizado fue una proteína soluble preparada a partir de larvas L3 de *H. contortus*. Se utilizaron placas de microtitulación (96 pozos Maxisorb, Nunc, Roskilde, Dinamarca), los antígenos se diluyeron en 0,1 mg en tampón de carbonato por pozo y se incubaron durante la noche a 4 °C. Posteriormente los pozos fueron lavados tres veces con PBS con 0,1% de Tween 20 (PBST). Los sitios de unión fueron bloqueados por 1 hora de con leche descremada al 5% con PBST. Las muestras de suero fueron diluidas por triplicado 01:100 en PBST, se incubaron durante 45 minutos a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces con PBST antes de adición del conjugado anti ovino (IgG) en una dilución de 1: 5000. Después de una incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, las placas se lavaron tres veces con PBST y posteriormente se les añadió 50 µL del sustrato TMB en cada pozo. La reacción de coloración se detuvo mediante la adición de 50 µL por pozo de H2SO4 2N y la densidad óptica se midió a 450 nm. (Chevrotière *et al.*, 2012).

2.7.4 Determinación de la eficacia. La eficacia de la vacuna se calculó a través de la formula descrita por la Wood *et al.*, (1995) basada en las medias geométricas de las cuentas de HPG del grupo control (GC) y el grupo tratado (GT).

$$E = \frac{\text{La media de GC} - \text{La media de GT}}{\text{La media del grupo control}} \times 100$$

2.8 Análisis estadístico

Los datos de HPG de NGI, eosinófilos periféricos en sangre IgG, cambio de peso vivo, hematocrito fueron analizados mediante una prueba de T de Student, utilizando el paquete estadístico SPSS. Los datos del conteo de huevos de NGI fueron transformados ($\log_{10} x+1$) para ajustar los datos a la distribución normal. El nivel de significancia considerado fue $P < 0.05$.

3. Resultados.

3.1 Eficacia de la vacuna

A partir del día 170 del estudio las corderas del grupo vacunado presentaron una reducción del 95% en las cuentas de HPG de NGI comparado con el grupo control.

3.2 Carga de huevos por gramo de heces.

La infección con NGI en los corderos durante el pastoreo fue patente a partir del día 28 del estudio (grupo vacunado = 10 HPG de NGI y grupo control = 27.5 HPG de NGI $P > 0.05$). En la figura 1, se puede observar el comportamiento que presentaron las corderas de los grupos vacunado y sin vacuna sobre la cuenta de HPG de NGI ($P > 0.05$). Debido a las bajas cargas parasitarias el día 142 del estudio, 10 corderos (5 por grupo) fueron infectados artificialmente con 7500 larvas L_3 de *H. contortus*. Como resultado del reto parasitario se observó una mayor excreción de HPG de NGI en el grupo control comparado con el grupo vacunado ($P < 0.05$).

3.3 Hematocrito.

El porcentaje de hematocrito de las corderas de los grupos vacunado y control fue de 35.0 ± 3.5 y de 35.4 ± 3.08 respectivamente. En la figura 2, se muestran los cambios en el porcentaje de Ht entre los grupos a lo largo del estudio ($P > 0.05$).

3.4 Respuesta de eosinófilos periféricos en sangre.

En relación a la respuesta inmune celular, las corderas del grupo vacunado presentaron un incremento en el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre a partir del día 14 del estudio ($P < 0.05$). Este comportamiento se mantuvo a lo largo del estudio ($P < 0.05$). Como se puede observar en la figura 3, la concentración de Eosinófilos periféricos en sangre mostraron una respuesta positiva asociada a la inmunización anterior.

3.5 Respuesta en la concentración de IgG.

Con respecto a los niveles de IgG ambos grupos de animales presentaron un comportamiento similar ($P > 0.05$), excepto el día 28 del estudio cuando se observa un incremento en los niveles de IgG en ambos grupos, el grupo vacunado presentó un mayor nivel de IgG en este periodo ($P < 0.05$). Previo al reto parasitario se observó un descenso en los niveles de IgG en ambos grupos y un aumento de estos niveles después de la inoculación de las larvas L_3 a los animales ($P > 0.05$).

3.5. Ganancia de peso vivo acumulado

La ganancia de peso vivo acumulado (GPVA) se presenta en el cuadro 1, donde puede observarse la similitud en esta variable para ambos grupos de corderas, no se encontró diferencia significativa entre ambos grupos ($P>0.05$).

4. Discusión.

Este es el primer trabajo en el trópico mexicano donde se prueba la eficacia de la vacunación contra *H. contortus*. La eficacia de la inmunización de la vacuna con 5µg de H11 y H-Gal-GP en el presente estudio fue superior al reportado por otros autores quienes encontraron eficacias de un 65% a 82% (Kabagambe *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2001; Le jambre *et al.*, 2008; Bassetto *et al.*, 2014) trabajando con diferentes razas, etapas fisiológicas y épocas del año. Estos autores reportaron que la eficacia de la vacunación solo se mantenía hasta seis semanas después de la última inmunización. En contraste en el presente estudio mediante un reto parasitario 8 semanas después de la última inmunización se observó que la eficacia de la vacuna aún fue de un 95%. Este resultado podría explicarse en función a la raza, la suplementación alimenticia durante el pastoreo y la edad de los animales (Greer y Hamie, 2016). Las ovejas de raza Pelibuey cuentan con resistencia contra los NGI (Figueroa Castillo *et al.*, 2011), por lo tanto, es probable que esta condición haya permitido que los animales cuenten con una memoria inmunológica de mayor duración. Por otra parte, los beneficios de la suplementación alimenticia sobre la respuesta inmune de los animales contra los NGI ha sido revisado por otros autores (Hoste *et al.*, 2008). En relación a la edad, durante el estudio las ovejas iniciaron con 6 meses de edad y finalizaron al año. Se menciona que las ovejas en este periodo de edad ya son capaces de montar una inmunidad fuerte contra los NGI y ante retos parasitarios pueden salir sin verse afectados en la fase final de su crecimiento, siempre que tengan recursos alimenticios suficientes (McClure *et al.*, 2000; Greer y Hamie, 2016).

Durante las primeras 12 semanas de pastoreo se encontró una similitud en las cargas de HPG de NGI entre los animales del grupo vacunado y el grupo control, esto podría deberse a la baja infección de las praderas, la resistencia genética de las ovejas Pelibuey y a la suplementación ofrecida a los animales durante el estudio (Saddiqi *et al.*, 2010; Torres-Acosta *et al.*, 2012; Greer y Hamie, 2016). El manejo de las praderas es una estrategia utilizada para reducir la infestación de las praderas con NGI y mejorar el nivel nutricional del rebaño (Torres-Acosta y Hoste 2008). Se ha reportado que existen razas de ovinos resistentes a NGI, que al ser sometidos a las infecciones naturales o artificiales con *H. contortus* presentan una menor excreción de HPG, una mayor ganancia de peso y un mayor porcentaje de Ht comparado con animales susceptibles (Greer y Hamie, 2016). Resultados similares han sido reportados en ovinos de la raza Pelibuey en México (Morteo-Gómez *et*

al., 2004). La resistencia tiene su base en la capacidad inmunológica de cada individuo para responder a la parasitosis (Gill, 2000). El efecto de la suplementación alimenticia sobre la resiliencia y resistencia de los ovinos y caprinos en pastoreo en el trópico ha sido documentado ampliamente (Knox *et al.*, 2006, Torres-Acosta *et al.*, 2012b). Durante el pastoreo en el trópico subhúmedo de México los animales no satisfacen sus necesidades nutricionales pierden condición corporal, se tornan anémicos y aumentan su excreción de HPG de NGI, con la suplementación se observa un reversión de estos efecto negativos (Retama-Flores *et al.*, 2012; Garate-Gallardo *et al.*, 2015). 28 días después de haber iniciado el reto parasitario se determinó una reducción del 97% ($P < 0.05$) en las cuentas de HPG de NGI por parte del grupo vacunado. Esto se pudo deber a la estimulación del sistema inmune a través de la inmunización previa con la vacuna y la adquisición de memoria en contra de *H. contortus* lo que evito el establecimiento de las larvas L3 en las ovejas del grupo vacunado.

La cuenta de HPG de NGI están asociados a la carga de parásitos adultos en los animales infectados (Le Jambre, 2008). En el presente estudio la severidad de la infección por NGI no fue suficiente para que los animales presentaran signología clínica o una disminución en sus indicadores de producción. El Ht es un indicador de los efectos fisiopatológicos de las infecciones con NGI en las ovejas (Chylinski *et al.*, 2015). Existe una correlación negativa entre los valores de Ht y las cuentas de HPG de NGI (Eysker y Ploeger, (2000). Incluso el Ht podría considerarse como una forma de estimación indirecta de la carga parasitaria o bien del grado de protección como consecuencia de una primoinfección, reinfección o de una inmunización (Figueroa Castillo *et al.*, 2011). Las acciones patógenas de los NGI, particularmente de *H. contortus* por su alimentación hematófaga, afectan negativamente el porcentaje de Ht en los ovinos infectados (Yacob *et al.*, 2009; Saddiqi *et al.*, 2011). En el presente estudio, ambos grupos de corderas presentaron porcentajes similares de Ht ($P > 0.05$). El porcentaje de Ht en ambos grupos fue superior al 30%. Estos valores muestran que no existió efecto alguno de las infecciones con NGI sobre esta variable fisiológica. Esto podría deberse a las bajas por cargas de NGI en las praderas y al nivel de suplementación de los animales. Resultados similares utilizando la misma vacuna fueron reportados por Basseto et al (2014) en corderos Bergamasca bajo pastoreo y suplementados con sorgo y ensilado de maíz. La suplementación alimenticia con energía, proteína o ambas en borregos infectados

con NGI ha demostrado sus beneficios para el mantenimiento de los niveles de Ht en la época de lluvia (Retama-Flores *et al.*, 2012).

La inmunización de los animales provocó un incremento en el porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre en las corderas del grupo vacunado. Igualmente se observó un incremento después del reto parasitario con larvas L3 de *H. contortus*. Esto podría indicar que las ovejas adquirieron memoria inmunológica contra la haemonchosis a través de la vacunación. Se ha demostrado que estas células son la primera línea de defensa contra los NGI (Balic *et al.*, 2000). La respuesta inmune celular contra NGI en ovinos y caprinos en estudios previos se determinó a través del conteo de eosinófilos periféricos (Huntley *et al.*, 1995, Macaldowie *et al.*, 2003, Santos *et al.*, 2014). Existe una correlación negativa entre la cuenta de eosinófilos y la cuenta de HPG de NGI (Yacob, *et al.*, 2009; Figueroa Castillo *et al.*, 2011). Los eosinófilos reducen el establecimiento de las larvas y la población de NGI adultos (Balic *et al.*, 2006). Se ha confirmado que al llegar las larvas a la mucosa gastrointestinal los eosinófilos se aglutinan y rodean a las larvas L3, lesionan su cutícula ocasionando así su muerte (Balic *et al.*, 2006). En el presente estudio, durante el reto con larvas L3 de *H. contortus*, las corderas vacunadas mostraron una menor cuenta de HPG de NGI ($P < 0.05$) y una mayor cuenta de eosinófilos periféricos ($P < 0.05$) comparado con el grupo control. Se ha demostrado, que las infecciones experimentales con dosis múltiples de larvas L3 de *H. contortus* mejoran la respuesta inmune celular y humoral en ovinos (Santos *et al.*, 2014). La inmunización previa con los antígenos H-gal-GP y H11 en el grupo de corderas vacunadas tuvo carácter protector contra la infección posterior con larvas L3 de *H. contortus* en el reto parasitario, lo cual puede observarse en la figura 6, donde se muestra las tendencias sobre la cuenta de HPG de NGI entre los grupos vacunado y no vacunado.

En relación a la respuesta inmune humoral, los niveles de IgG fueron similares en ambos grupos de animales a lo largo del estudio ($P > 0.05$). Esto podría deberse a las características de resistencia de las ovejas Pelibuey contra los NGI (Figueroa Castillo *et al.*, 2011) o a la exposición continua de los ovinos a los NGI durante el pastoreo. Se plantea, que las razas de ovinos de pelo en los trópicos cuentan con habilidad genética para resistir o tolerar a los NGI, como resultado de la exposición continua generacional con los NGI (Piedrafita *et al.*, 2012; Saddiqi *et al.*, 2011).

Con respecto a la ganancia de peso no se encontró diferencia significativa entre los grupos ($P > 0.05$). Esto podría deberse a que los NGI presentes en el área de estudio no fueron suficientes para ocasionar alteraciones en este indicador. Se ha calculado que las pérdidas de peso en los animales infectados con NGI están en un rango de 20-40% (Torres-Acosta *et al.*, 2012b). Sin embargo, la los efecto detrimentales observados en los animales infectados con NGI está en función a la carga parasitaria (Besier *et al.*, 2016). Sweeny et al (2011), reportaron que corderos Doper de 9 meses de edad con cargas menores a 500 HPG presentaron ganancias diarias de peso 95% más alto que los corderos que presentaron cargas de 1000 HPG de NGI. Glaji et al (2014), reportaron que cargas menores 600 HPG de NGI no afectaron el hematocrito de los animales. Rodríguez-Vivas y Cob-Galera (2005) por su parte, mencionan que las cargas de NGI iguales o menores a 200 HPG pueden considerarse como leves y no suelen asociarse a alteraciones en el comportamiento productivo de los animales. Se menciona que entre los factores que influyen sobre regulación de la carga parasitaria de los ovinos esta la edad, el peso vivo, la raza y la alimentación de los animales (Angulo-Cubillan *et al.*, 2007). En el presente estudio las corderas de ambos grupos mostraron la patencia de la infección el día 70 del estudio y 8 meses de edad. Al respecto, Greer y Hamie (2016), menciona que los corderos de 7 meses de edad son capaces de montar una inmunidad fuerte contra las infecciones con NGI y expulsar a las larvas, evitando de esta manera la implantación de las mismas y los signos clínicos de la infección. Por otra parte, las corderas fueron de raza Pelibuey, existen evidencias de que esta raza presenta un alta resistencia contra las infecciones de NGI (Figuroa-Castillo *et al.*, 2011; Palomo-Couoh *et al.*, 2016). Adicionalmente, la suplementación alimenticia de los corderos en pastoreo ayudan a regular sus cargas parasitarias a través de mecanismos inmunológicos (Hoste *et al.*, 2008, 2016), lo cual pudo haber ocurrido en el presente estudio por la suplementación ofrecida a los animales durante el pastoreo.

6. Conclusión

Se concluye que la inmunización de corderas de pelo bajo pastoreo con la vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) fue eficaz para el control de *H. contortus*, mejoró la respuesta eosinofílica, redujo la cuenta de HPG de *H. contortus* ante un reto parasitario, pero no mejoró la ganancia de peso, hematocrito ni el nivel de IgG en corderas Pelibuey en el trópico subhúmedo de México

7. Referencias

- Angulo-Cubillán F. J., García-Coiradas L., Cuquerella M., de la Fuente C. y. Alunda J. M. 2007. *Haemonchus contortus*-SHEEP RELATIONSHIP: A REVIEW. Revista Científica. 7(6): 577-587.
- Balic, A.; Bowles, V. M. and Meeusen, E. N. T., 2000. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Adv. Parasitol.* 45, 181–241.
- Balic, A., Cunningham, C.P., Meeusen, E.N.T., 2006. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. *Parasite Immunol.* 28, 107–115.
- Bassetto, C. C., Picharillo, M. É., Newlands, G. F. J., Smith, W. D., Fernandes, S., Siqueira, E. R., & Amarante, A. F. T., 2014. Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. *Int J Parasitol.* 44(14), 1049–1054.
- Benjamin, M.M., 1991. Manual de patología clínica veterinaria. Mexico. Ed Limusa pp. 9-91.
- Besier R.B., Kahn L.P., Sargison N.D., Van Wyk J.A. 2016. Diagnosis, Treatment and Management of *Haemonchus contortus* in Small Ruminants. *Adv Parasitol.* 93:181-238
- Chevrotière C., Bambou J.C., Arquet R., Jacquet P., Mandonnet N., 2012. Genetic analysis of the potential role of IgA and IgE responses against *Haemonchus contortus* in parasite resistance of Creole goats. *Vet Parasitol.* 186, 337– 343
- Chylinski C., Cortet J., Neveu C., Cabaret J., 2015. Exploring the limitations of pathophysiological indicators used for targeted selective treatment in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol.* 207, 85-93
- Coop R.L. & Kyriazakis I., 1999. Nutrition–parasite interaction. *Vet Parasitol.* 84, 187–204.
- Esteban-Andrés D., González-Garduño R., Garduza-Arias G., Ojeda-Robertos N.J., Reyes-Montes F., Gutiérrez-Cruz S. 2013. Desarrollo de resistencia a nematodos gastrointestinales

en ovinos de pelo desafiados con diferentes niveles de infección. Rev. Med. Vet. Zoot. 60, 169-181

Eysker, M. and Ploeger, H. W., 2000. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections of ruminants. Parasitology. 120, 109-119.

Figueroa Castillo J.A., Medina R.D., Villalobos J.M., Gayosso-Vázquez A., Ulloa-Arvizu R., Rodríguez R.A., Ramírez H.P., Morales R.A., 2011. Association between major histocompatibility complex microsatellites, fecal egg count, blood packed cell volume and blood eosinophilia in Pelibuey sheep infected with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol. 177, 339–344.

Gárate-Gallardo L., Torres-Acosta J.F., Aguilar-Caballero A. J., Sandoval-Castro C. A., Cámara-Sarmiento R., Canul-Ku H.L., 2015. Comparing different maize supplementation strategies to improve resilience and resistance against gastrointestinal nematode infections in browsing goats. Parasite. 22, 19.

Gill H.S., Altmann K., Cross M.L., Husband A.J., 2000. Induction of T helper 1-and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep. Immunology. 99, 458-463.

Glaji Y. A., Mani A. U., Igbokwe I. O. 2014. Igbokwe Relationship of faecal egg count with packed cell volumen and anaemia in Sahel sheep and goats in semi-arid northeastern Nigeria. Comp Clin Pathol. 23:1195–1201

Greer A.W. y Hamie J.C. 2016. Relative maturity and the development of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep: An overlooked paradigm?. Parasite Immunol. 38, 263–272.

Harvey J. 2012. Veterinary Hematology A Diagnostic Guide and Color Atlas. ELSEVIER. St. Louis Missouri, USA: Harvey JW. Pp.11-33.

Hoste H., Torres Acosta J.F.J., Aguilar Caballero A.J. 2008. Nutrition–parasite interactions in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? Parasite Immunol. 30, 79-88

Hoste H., Torres-Acosta J.F., Quijada J., Chan-Perez I., Dakheel M.M., Kommuru D.S., Mueller-Harvey I., Terrill T.H. 2016. Interactions Between Nutrition and Infections With *Haemonchus contortus* and Related Gastrointestinal Nematodes in Small Ruminants. *Adv Parasitol.* 93:239-351

Huntley J. F., Patterson M., Mackellar A., Jackson F., Stevenson L. M., Coop R.L., 1995 A comparison of the mast cell and eosinophil responses of sheep and goats to gastrointestinal nematode infections. *Res Vet Sci.* 58, 5-10

Kabagambe, E.K., Barras, S.R., Li, Y., Pen˜ a, M.T., Smith, W.D. & Miller, J.E., 2000. Attempts to control haemonchosis in grazing ewes by vaccination with gut membrane proteins of the parasite. *Vet. Parasitology.* 92, 15–23.

Knox, D. P. y Smith, W. D., 2001. Vaccination against gastrointestinal nematode parasites of ruminants using gut-expressed antigens. *Vet. Parasitol.* 100(1-2), 21–32.

Knox, M.R., Torres-Acosta, J.F.J., Aguilar-Caballero, A.J., 2006. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 139, 385-393.

LeJambre, L. F., Windon, R. G., y Smith, W. D., 2008. Vaccination against *Haemonchus contortus*: Performance of native parasite gut membrane glycoproteins in Merino lambs grazing contaminated pasture. *Vet. Parasitol.* 153(3–4), 302–312.

Macaldowie C., Jackson F., Huntley J., Mackellar A., Jackson E., 2003. A comparison of larval development and mucosal mast cell responses in worm-naïve goat yearlings, kids and lambs undergoing primary and secondary challenge with *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.* 114, 1–13

McClure, S.D., Emery, L.D., Steel, J.W. 2000. Host resistance to gastrointestinal parasite of sheep. In: *Ruminant Physiology : Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction.* CABI Publishing, Oxon, U.K. 425-436.

Mederos, A. E., Ramos, Z., & Banchemo, G. E., 2014. First report of monepantel *haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites & Vectors.* 7, 598

Morteo-Gómez¹, R., González-Garduño, R., Torres-Hernández¹, G., Nuncio-Ochoa, G., Becerril-Pérez C. M., Gallegos-Sánchez J., Y Aranda-Ibañez E., 2004. Efecto de la variación fenotípica en la resistencia de corderos pelibuey a la infestación con nematodos gastrointestinales. *Agrociencia*; 38, 395-404.

Palomo Couoh J. G., Aguilar-Caballero, A. J., Torres-Acosta, J. F. J., Magaña-Monforte J. G. 2016. Evaluation of different models to segregate Pelibuey and Katahdin ewes into resistant or susceptible to gastrointestinal nematodes. *Trop Anim Health Prod.* doi:10.1007/s11250-016-1122-6.

Piedrafitaa D.P., Veera M.J., Sherrarda J., Kraskaa T., Elhayc M., Meeusena E.N. 2012. Field vaccination of sheep with a larval-specific antigen of the gastrointestinal nematode, *Haemonchus contortus*, confers significant protection against an experimental challenge infection. *Vaccine* 30: 7199–7204

Retama-Flores¹ C., Torres-Acosta J. F. J., Sandoval-Castro C. A., Aguilar-Caballero A. J., Camara-Sarmiento R., Canul-Ku H. L., 2012. Maize supplementation of Pelibuey sheep in a silvopastoral system: fodder selection, nutrient intake and resilience against gastrointestinal nematodes. *Animal*. 6(1), 145–153

Rodríguez-Vivas R.I., y Cob-Galera L.A., 2005. Técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria (Segunda edición). Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Pp.306

Rodríguez Vivas, R.I., 2015. Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. AMPAVE-CONASA. México, D.F. Pp. 115

Saddiqi H.A., Iqbal Z., Khan M.N., Sarwar M., Muhammad G., Yassen M., Jabbar A., 2010. Evaluation of three pakistani sheep breeds for their natural resistance to artificial infection of *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol.* 168,141-145

Saddiqi, H. A., Jabbar, A., Sarwar, M., Iqbal, Z., Muhammad, G., Nisa, M., & Shahzad, A., 2011. Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: a case of *Haemonchus contortus*. *Parasitol Res.* 109(6), 1483–1500.

Santos M. C., Xavier J. K., Amarante M.R.V., Bassetto C. C., Amarante A. F. T., 2014. Immune response to *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* in sheep and its role on parasite specificity. *Vet. Parasitology*. 203 127–138

Šimpraga M., Ljubičić I., Hlede J.P., Vugrovečki A.S., Marinculić A., Tkalčić S., 2015. Alternative approaches for the control of gastrointestinal nematodes in sheep farming: a review. *Berl munch tierarztl*. 128(7-8), 257-70.

Smith, S. K., Pettit, D., Newlands, G. F., Redmond, D. L., Skuce, P. J., Knox, D. P. Smith, W. D., 1999. Further immunization and biochemical studies with a protective antigen complex from the microvillar membrane of the intestine of *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunol*. 21, 187-199.

Smith, W. D., Van Wyk, J. A., y Van Strijp, M. F., 2001. Preliminary observations on the potential of gut membrane proteins of *Haemonchus contortus* as candidate vaccine antigens in sheep on naturally infected pasture. *Vet. Parasitol*. 98(4), 285–297.

Sweeny J.P., Gardner G.E., Dobson R.J., Jacobson C., Bell K. 2011. Associations between trichostrongylid worm egg count and productivity measures in Dorper lambs. *Vet Parasitol*. 180(3-4):307-14.

Torres-Acostaa, J.F.J., Jacobsb D.E., Aguilar-Caballeroa A., Sandoval-Castroa C., May-Martinez M., Cob-Galera L.A. 2004. The effect of supplementary feeding on the resilience and resistance of browsing Criollo kids against natural gastrointestinal nematode infections during the rainy season in tropical Mexico. *Veterinary Parasitology*. 124; 217–238

Torres-Acosta, J. F. J., Aguilar-Caballero, A. J., Le Bigot, C., Hoste, H., Canul-Ku, H. L., Santos-Ricalde, R., y Gutiérrez-Segura, I., 2005. Comparing different formulae to test for gastrointestinal nematode resistance to benzimidazoles in smallholder goat farms in Mexico. *Vet. Parasitol*. 134(3-4), 241–248

Torres-Acosta, J. F. J., Hoste, H., 2008. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small ruminant Res*; 77:159-173.

Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J., Cuéllar-Ordaz, J.A., 2012a. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Vet. Parasitology*. 189: 89-96..

Torres-Acosta, J.F., Sandoval-Castro, C-A-, Hoste, H., Aguilar-Caballero, A.J., Cámara-Sarmiento, R., Alonso-Díaz, M.A., 2012b. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small. Rumin. Res.* 103: 28-40.

Torres Acosta, J., Vargas Magaña, J., Chan Pérez, J., Aguilar Caballero, A., Alonso Díaz, M. y Ojeda Robertos, N. 2016. Recuperación de Helmintos a la Necropsia. In: Rodríguez Vivas, R. ED., *Técnicas para el Diagnóstico de Parásitos con Importancia en Salud Pública y Veterinaria*, 1st ed. México: Roger Iván Rodríguez Vivas. Pp.158-197.

Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, T., Malone Jr., J.B., Pankavich, J.A., Reinecke, R.K., Slocombe, O., Taylor, S.M., Vercruyse, J., 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.* 58, 181–213.

Yacob H.T., Mistre Ch., Adem A.H., Basu AK., 2009. Parasitological and clinical responses of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* (L3) with and without ivermectin treatment. *Vet. Parasitol.* 166, 119–123

Cuadro 2. Promedios de ganancia de peso vivo acumulado (GPVA) en corderas inmunizadas con una vacuna de antígenos ocultos (H11 y H-Gal-GP) y sin vacunar durante la época de lluvias en el Trópico subhúmedo de México.

Grupo	N	GPVA
Vacunado	20	3.8±4.08 ^a
Control	20	3.9±2.08 ^a
Total	40	3.8±3.23

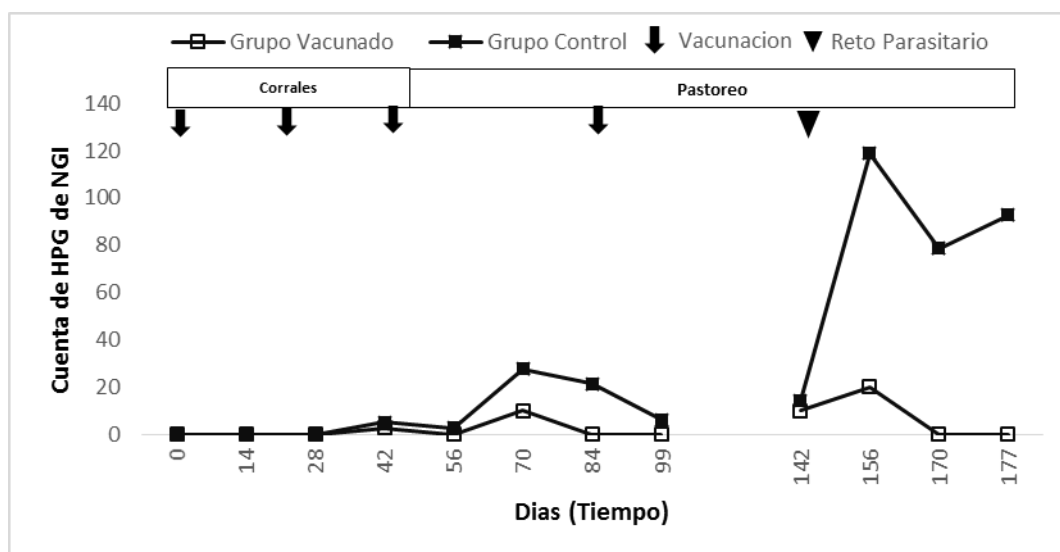


Figura 1. Número promedio de huevos por gramo de heces (HPG) de nematodos gastrointestinales en corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.

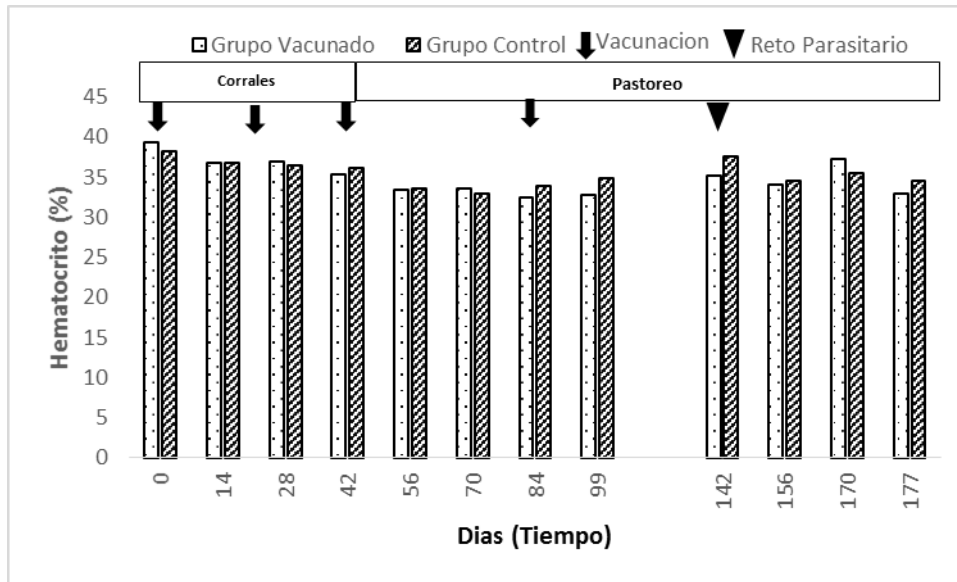


Figura 2. Valores de hematocrito (%) en corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.

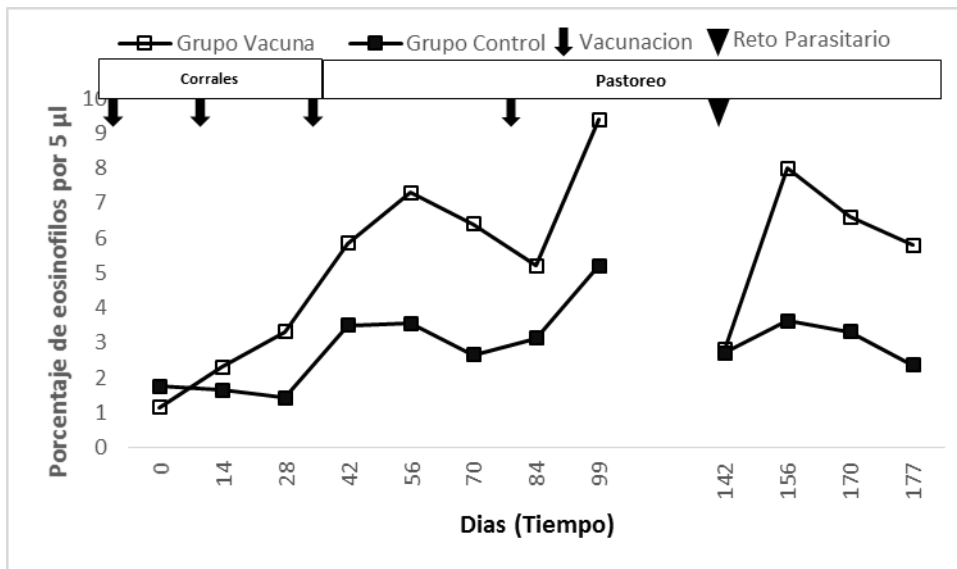


Figura 3. Porcentaje de eosinófilos periféricos en sangre de corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.

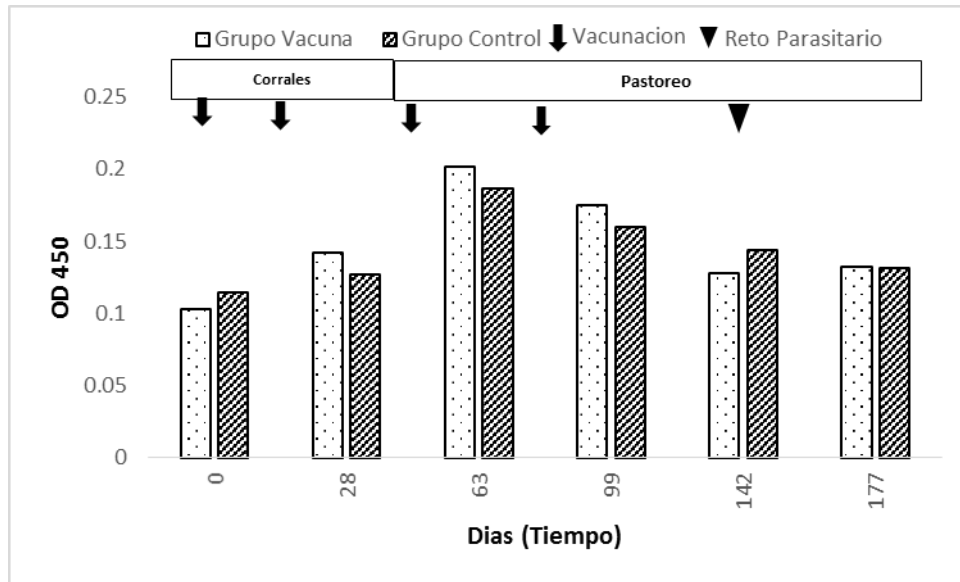


Figura 4. Nivel de IgG en corderas de pelo tratadas con una vacuna de antígenos ocultos (grupo vacunado) y sin tratamiento (grupo control) bajo condiciones de pastoreo en Yucatán, México.