

HEMONCOSIS EXPERIMENTAL EN OVINOS: CINETICA DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS ANTI-*Haemonchus contortus* Y ANTI-ERITROCITOS DE POLLO E INTRADERMORREACCION A LA FITOHEMAGLUTININA. ^a

María Eugenia López Arellano ^b

Carlos Ramón Bautista Garfías ^c

Hector Quiroz Romero ^d

David Herrera Rodríguez ^b

RESUMEN

Con el objeto de conocer la competencia inmunológica en ovinos infectados con *Haemonchus contortus*, se determinó la respuesta a: 1) la inoculación de un segundo antígeno timodependiente, eritrocitos de pollo (EP), en términos de la producción de anticuerpos (independientemente de aquellos generados contra el parásito) y, 2) a la aplicación intradérmica (ID) de un mitógeno inespecífico de linfocitos T y B, la Fitoheماغلutinina (FHA). Para este propósito se utilizaron 10 ovinos de 8 a 24 meses de edad, libres de nemátodos gastroentéricos, los cuales fueron distribuidos al azar en dos grupos: uno testigo (A, n = 6) y uno infectado (B, N = 4) con 10,000 L3 de *H. contortus*/ovino por vía oral. En estos animales, se llevaron a cabo muestreos hematológicos, coprológicos y serológicos cada 7 días durante 8 semanas; iniciándolos una semana antes de la infección. Asimismo, se determinó el grosor de la piel a las 24 horas posinoculación ID de FHA. De igual manera, se inocularon EP (2 millones de células/ovino/vía intravenosa) en una sola ocasión, en el 10º día posinfección (p.i.). El grupo B, comenzó a eliminar huevecillos del parásito a partir del día 21 p.i. y, desde ese mismo día, los parámetros hematológicos evaluados (eritrocitos, hemoglobina, hematocrito y proteína plasmática) comenzaron a disminuir, en comparación con el grupo no infectado. Por otra parte, se observó un incremento en los títulos de anticuerpos anti-*H. contortus* (determinados por medio de la prueba de hemoaglutinación indirecta con antígeno de L3) en el grupo B, a partir del día 21 p.i. En cuanto a la respuesta de anticuerpos anti-EP (evaluada por medio de la técnica de hemoaglutinación directa), ésta se elevó significativamente ($P < 0.05$) en el grupo A, en comparación con el B, en los días 28 y 35 p.i. Similarmente, la reacción ID a la FHA, fué significativamente menor ($P < 0.05$), en los días 21 y 42 p.i., en los animales infectados. Los resultados obtenidos hasta el momento, sugieren que *H. contortus* modula la respuesta inmune en los ovinos que parasita.

Téc. Pec. Méx. Vol. 29 No. 2 (1991)

INTRODUCCION

La hemoncosis es una enfermedad parasitaria de los ruminantes domésticos reconocida mundialmente por su alto grado de patogenicidad en climas tropicales ^{2, 27}.

Numerosos estudios se han llevado a cabo sobre la morfología, patogenicidad y quimioterapia de *Haemonchus contortus*, pero en pocos estudios se ha evaluado la respuesta inmunológica del hospedero contra este nemátodo. En 1950, Stewart ²⁸ observó un fenómeno de autocuración parasitaria en borregos que habían padecido hemoncosis en más de una ocasión y en infecciones continuas; manifestándose este fenómeno por la expulsión del nemátodo adulto, ya presente en el abomaso, inhibición del metabolismo de la larva cuatro (L4) en la mucosa e interrupción de la salida de huevos en las heces. Allonby y Urquhart ² sugieren

a Recibido para su publicación el 16 de abril de 1991.

b Unidad de Parasitosis Gastroentéricas y Pulmonares.

c Unidad de Trematodiasis. CENID-Parasitología, INIFAP-SARH. Km 11.5 Carretera Federal Cuernavaca-Cuatla. Apdo. postal 206, CIVAC 62500, Estado de Morelos.

d Secretaría de Planeación, FMVyZ, UNAM. Ciudad Universitaria. Coyoacán 04510, México, D.F.

que este fenómeno corresponde a la dinámica poblacional que los propios parásitos se autoimponen frente a la respuesta inmunológica del hospedero. Asimismo, Luffau *et al.*¹⁷, le atribuyen características de hipersensibilidad tipo I aunada a una reacción de inmunidad celular local. Sin embargo, no siempre se presenta este tipo de fenómeno, puesto que también depende de la dosis de larvas infectantes (L3), de la carga parasitaria y del intervalo entre periodos de infección^{4, 25}.

Christie *et al.*⁹ y Miller *et al.*¹⁸, describen otra forma de "expulsión inducida" en ovinos de 7 meses de edad, al inocular dosis pequeñas pero continuas de L3 de *H. contortus*, observando posteriormente una disminución del 90% de huevos por gramo de heces. Los hallazgos de estos autores, sugieren una posible estimulación inmunológica ejercida en animales mayores de 7 meses de edad, por su sistema inmune maduro. Así lo indican los estudios realizados por Nguyen¹⁹ y Soulsby²⁶, quienes observaron una baja respuesta humoral en ovinos menores de 6 meses de edad, a los cuales se les aplicaron glóbulos rojos de pollo y L3 de *H. contortus*, respectivamente; comparada con la mayor respuesta humoral de animales adultos (8 a 24 meses de edad) tratados de manera similar. Se ha sugerido que la inmadurez inmunológica de los ovinos de menos de 6 meses de edad puede llegar a causar la muerte en infecciones agudas con *H. contortus*².

La exposición previa de borregos adultos a este parásito, a dosis pequeñas de L3 les permite, en algunas ocasiones, resistir la infección, pero otras veces los hará susceptibles a la hemoncosis, dependiendo del estado fisiológico del animal. Por ejemplo, en las hembras lactantes y periparturientas se presenta una disminución en la respuesta inmune, provocada por cambios hormonales relacionados con la lactación, lo cual se asocia a un incremento en la eliminación de huevos de parásitos a través de las heces¹³. En este contexto, se ha sugerido que la presencia de *H. contortus*, disminuye la respuesta inmune del hospedero^{8,21}.

El presente estudio se llevó a cabo con el objeto de conocer la competencia inmunológica en ovinos infectados experimentalmente con *H. contortus*, por medio de la determinación de anticuerpos contra un antígeno heterólogo (eritrocitos de pollo) y de la intradermorreacción a un mitógeno inespecífico de linfocitos T y B (fitohemaglutinina).

MATERIALES Y METODOS

A. Animales

Se emplearon 10 ovinos de raza Pelibuey, de 8 a 24 meses de edad, con un peso similar y libres de nemátodos gastroentéricos. Los borregos se localizaron en el rancho "San Francisco", ubicado en la carretera Federal Chalco-Mixquic, Km 12.5, Estado de México, México. Estos, se distribuyeron al azar en dos grupos: uno testigo no-tratado (A, n = 6) y uno infectado (B, n = 4) con *H. contortus*.

B. Parásito e infección experimental

Se colectaron heces positivas a huevos de *H. contortus*, cepa "Hueytamalco"⁷, de un ovino con una infección experimental monoespecífica del parásito (llevada a cabo en el CENID-Parasitología), para realizar coprocultivos con aserrín estéril y agua destilada. Las larvas infectivas (L3) se obtuvieron el día 15, después de iniciado el cultivo, utilizando el aparato de Baermann. Estas, se dejaron a 4 C durante 4 horas para que sedimentaran y posteriormente se lavaron una vez por gradiente de densidad (1.16) centrifugándolas a 350 X g/15 min. Posteriormente, se realizó el conteo de las L3, colocándolas en viales de 5 ml para inocular 10,000 L3/ovino /vía oral (día 0), 15 días después de haberlas colectado.

C. Extracto crudo de la L3 de *H. contortus*

Las L3 fueron maceradas a razón de un millón de larvas/ml de solución salina amor-

tiaguadora de fosfatos, pH 7.2, conteniendo 400 UI de penicilina, 400 μ g de estreptomina y 10 μ l de EDTA (10 mM) en un homogenizador automático, con sistema de refrigeración integrado, durante 30 min. Posteriormente, la solución obtenida se dejó agitando lentamente en refrigeración (4 C durante 12 horas) y se centrifugó a 700 x g/1 h/4 C. El sobrenadante obtenido, se colectó y se determinó la concentración de proteínas por medio del método de Biuret^{23,30}. Este material (antígeno) se congeló a -20 C hasta su uso.

D. Inoculación de Eritrocitos de Pollo (EP)

Se prepararon 10 alícuotas de EP conteniendo, cada una, 2 millones de células en solución salina fisiológica estéril. En el 10^o día p.i. con *H. contortus*, cada uno de los 10 ovinos fué inoculado, una sóla vez, por vía intravenosa con el contenido de una alícuota, de acuerdo a lo informado por otros autores^{19,20}.

E. Pruebas parasitológicas

Los animales fueron muestreados directamente del recto siete días antes y cada siete días posinfección (p.i.), durante seis semanas, para determinar el número de huevos de nemátodos por gramo de heces (hpg), por medio de la técnica de Mc Master²⁹.

F. Pruebas hematológicas

Se colectaron muestras de sangre, directamente de la vena yugular, en citrato de sodio al 3.8%, cada semana a partir del día -7 hasta el término del experimento, que correspondió al día 42 p.i., para determinar el número de eritrocitos (millones/mm³), hemoglobina (g/100 ml), hematocrito (%) y proteína plasmática (g/100 ml) de acuerdo a las técnicas descritas por Benjamín⁶.

G. Pruebas serológicas

Para determinar los anticuerpos anti-*H. con-*

tortus, se empleó la prueba de hemoaglutinación indirecta (HI)⁵, utilizando una concentración de proteína del antígeno (extracto crudo de L3 de *H. contortus*) de 90 μ g/ml para sensibilizar a los eritrocitos. La evaluación de anticuerpos anti-EP, se llevó a cabo por medio de la prueba de hemoaglutinación directa (HD)^{19,20}, usando como antígeno EP al 1.5%.

H. Prueba intradérmica

Con base en los estudios de Jacobs *et al.*¹⁵ y Kelly *et al.*¹⁶, se inocularon, por vía intradérmica (ID), en la tabla del cuello (previamente rasurada y formando un rectángulo de 5 X 10 cm²) 0.1 ml (100 μ g) de FHA y 0.1 ml de solución salina fisiológica como testigo. Cada zona de inoculación, se encerró en un círculo para facilitar la lectura a las 0 (inmediatamente antes de la inoculación) y 24 horas posinoculación.

I. Análisis estadístico

Se utilizó la prueba *t* de Student¹⁰.

RESULTADOS Y DISCUSION

A. Pruebas parasitológicas: En el grupo infectado, se observó la eliminación de huevos de *H. contortus*, en las heces, a partir del día 21 p.i. con un promedio de 1688 hpg, que se fué incrementando durante los últimos muestreos; apreciándose el máximo en el día 42 p.i. con un promedio de 7,000 hpg. Las muestras de heces de los animales testigo, se observaron libres de nemátodos gastroentéricos, durante todo el experimento.

B. Pruebas hematológicas: Los parámetros obtenidos en el presente estudio se compararon con los reportados como normales por Benjamín⁶. En este sentido, se apreciaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre ambos grupos, a partir del día 21 p.i. donde el número de eritrocitos disminuyó en el grupo infectado en los

muestras correspondientes a los días 21, 28, 35 y 42 p.i. (Gráfica 1.a). Los valores de hemoglobina se mantuvieron normales en ambos grupos en casi todos los muestreos, excepto para el grupo infectado, en donde se observó una disminución significativa que correspondió al día 21 p.i. (Gráfica 1.b). El porcentaje de hematocrito se observó disminuido en el grupo B en los días 21 y 28 p.i. (Gráfica 1.c). En cuanto a la cantidad de proteína plasmática, ésta disminuyó de manera significativa durante los días 21 y 28 en el grupo infectado (Gráfica 1.d).

C. Pruebas serológicas: Por medio de la prueba de HI se observaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre grupos, desde el día 21 p.i. en adelante (Gráfica 2.a). Los resultados obtenidos con la prueba de HD indicaron una disminución de la respuesta de anticuerpos circulantes anti-EP ($P < 0.05$) en el grupo infectado, en los días 28 y 35 p.i. (Gráfica 2.b).

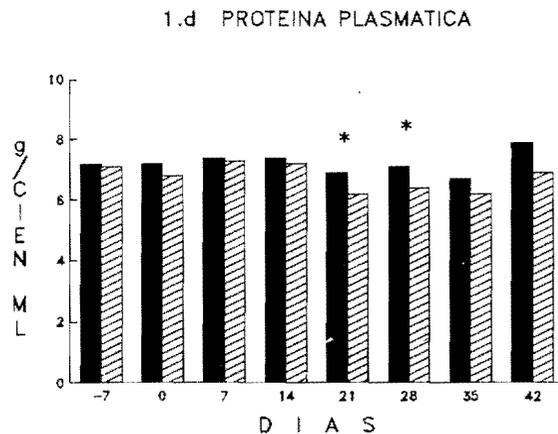
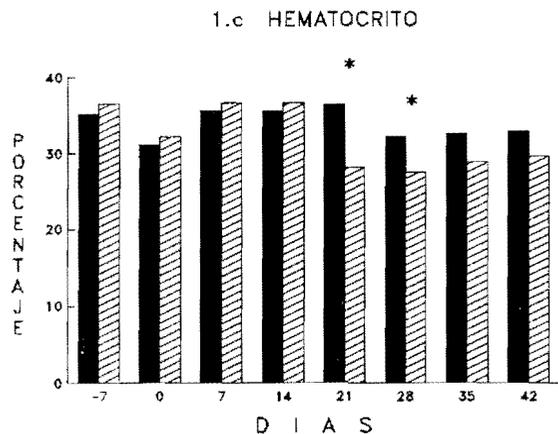
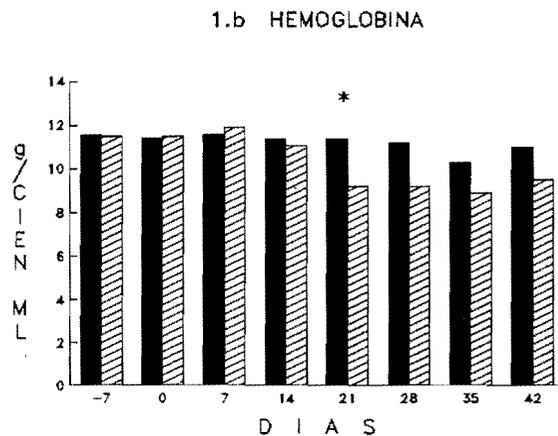
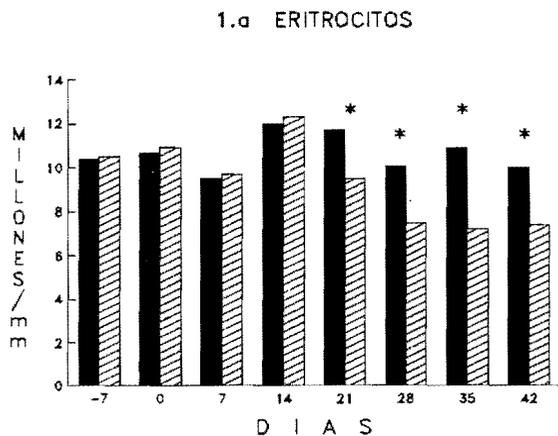
D. Prueba intradérmica: La reacción intradérmica a la FHA se observó incrementada, en casi todas las semanas p.i., en el grupo testigo y disminuida en el grupo infectado. Dicha diferencia fué estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en los días 21 y 42 p.i. (Gráfica 2.c).

La eliminación de huevos de *H. contortus* en las heces de los ovinos infectados, la disminución de los parámetros hematológicos, causada por las lesiones en la mucosa abomasal y por el hábito hematófago del parásito, concuerda con lo informado por otros autores^{11, 27}.

Los títulos de anticuerpos anti-*H. contortus*, comenzaron a elevarse en los ovinos infectados desde la primera semana p.i. En este contexto, Luffau *et al.*¹⁷ opinan que posiblemente los antígenos eliminados durante el cambio de L3 a L4, junto con los antígenos somáticos de este último estadio, sean los de mayor capacidad inmunogénica, de tal suerte que inducen anticuerpos circulantes y, a su vez, generen protección; sin embargo, se ha señalado que la continuidad del daño parasitario observado en

animales con anticuerpos, indica que esta clase de protección dura muy poco tiempo^{1, 25}. Esto también dependerá de factores propios del individuo (edad, sexo, entre otros), sobre todo de tipo genético, puesto que algunos huéspedes son más susceptibles que otros a las infecciones parasitarias³⁰. Asimismo, diversos estudios señalan que los borregos jóvenes (de menos de 6 meses de edad) son incapaces de generar una respuesta inmune protectora contra nemátodos gastrointestinales, debido a la inmadurez de su sistema inmunitario³⁰. En el caso de los animales adultos, aunque son inmunológicamente competentes, no siempre son resistentes a las reinfecciones por *H. contortus*^{1, 3}, lo cual sugiere que el parásito provoca inmunodepresión. En el presente estudio, se observó que los títulos de anticuerpos anti-EP fueron significativamente menores ($P < 0.05$), en los días 18 y 25, en relación a la inoculación de EP, (que corresponden a los días 28 y 35 p.i. con *H. contortus*) en el grupo de animales infectados (Gráfica 2.b). Este hecho sugiere que *H. contortus*, principalmente el parásito adulto, regula la respuesta inmune del huésped. Sin embargo, debido al tipo de diseño experimental utilizado en el presente estudio, no fué posible determinar el o los mecanismos que emplea dicho parásito para tal fin. En este sentido, Adams¹, sugiere que las infecciones por *H. contortus* en ovinos estimulan linfocitos T-supresores en la mucosa del abomaso; lo cual es altamente probable ya que los linfocitos que predominan en la mucosa abomasal de ovinos con hemoncosis, son linfocitos T, en donde la proporción T-supresores/citotóxicos (CD8+) y T-cooperadores (CD4+), es aproximadamente igual¹⁴.

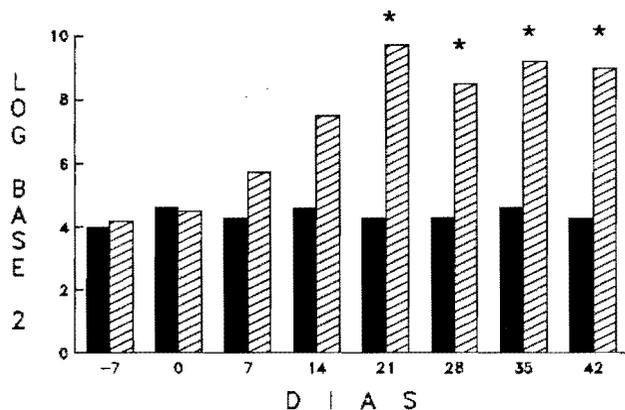
Por otra parte, la inoculación y determinación de anticuerpos contra antígeno timo-dependientes, como son los EP y los glóbulos rojos de borrego (GRB), se han utilizado para demostrar la inmunodepresión en ovinos infectados con *Fasciola hepatica*²⁰ y en ratones parasitados por *Nematospiroides dubius*²². En este sentido Pritchard *et al.*²², sugieren que el mecanis-



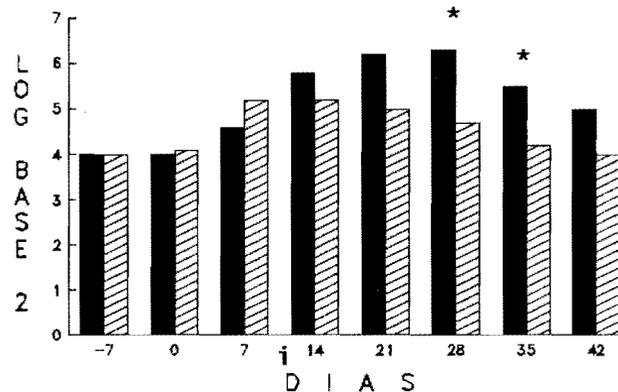
GRAFICA 1. VALORES HEMATOLOGICOS PROMEDIO EN OVINOS INFECTADOS O NO CON *H. contortus* .

▨ OVINOS INOCULADOS CON 10,000 L3 DE *H. contortus*/ANIMAL/VIA ORAL EL DIA 0 (n = 4)
 ■ OVINOS TESTIGO (n = 6). * P < 0.05

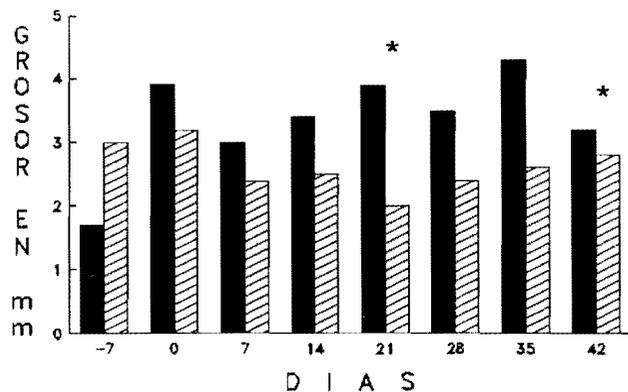
2.a ANTICUERPOS VS H. contortus.PRUEBA DE HEMOAGLUTININACION INDIRECTA



2.b ANTICUERPOS VS ERITROCITOS DE POLLO. PRUEBA DE HEMOAGLUTINACION DIRECTA



2.c REACCION INTRADERMICA A LA FITOHEMAGLUTININA



GRAFICA 2. VALORES PROMEDIO DE ANTICUERPOS VS H. contortus Y ERITROCITOS DE POLLO E INTRADERMORREACCION A LA FITOHEMAGLUTININA.

■ OVINOS TESTIGO NO-INFECTADOS (n=6).

▨ OVINOS INFECTADOS CON 10,000 L3 DE H. contortus/ANIMAL/VIA ORAL EL DIA 0 (n=4).

(i) INOCULACION CON 2 MILLONES DE ERITROCITOS DE POLLO/OVINO/VIA INTRAVENOSA EL DIA 10.

*P<0.05

mo inmunodepresor observado en infecciones por *N. dubius*, es causado por alguna sustancia inmunodepresora liberada por este nemátodo, de una manera similar a lo observado con el líquido de muda de la L3 a larva cuatro (L4) de *Oesophagostomum radiatum*, el cual es capaz de inhibir la proliferación de linfocitos T de bovino *in vitro*¹².

Por el contrario, en pruebas serológicas en las cuales se ha empleado antígeno de muda de L3 a L4 de *H. contortus*, se ha demostrado la presencia de títulos altos de anticuerpos contra este tipo de antígeno en ovinos con hemoncosis, el cual podría inducir protección parcial, sin embargo, el daño provocado por los diversos estadios evolutivos del parásito, que contienen diferentes antígenos, sugiere la posibilidad de que el antígeno de muda no sea inmunodominante^{3,26}.

Con respecto a la reacción ID observada en el presente trabajo, la disminución de la respuesta (Gráfica 2.c) está relacionada con el establecimiento de *H. contortus* y con el periodo preparto de la hemoncosis, el cual se considera como etapa crítica de la infección¹⁸. En este sentido, el empleo de mitógenos de linfocitos T y B en cultivos *in vitro* para observar la respuesta de ovinos infectados con *H. contortus*, ha demostrado que también existe una disminución de la respuesta inmune en hembras gestantes cercanas al periodo de parto, provocada por la presencia de gonadotropinas^{13,24}.

Por otro lado y de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se sugiere que la infección por *H. contortus* deprime la respuesta inmune de su huésped, lo cual puede ser detectado por medio de la respuesta de anticuerpos circulantes contra un antígeno heterólogo timo-dependiente (EP) y de la respuesta ID a la FHA. Para conocer el o los mecanismos responsables de esta inmunodepresión, se sugiere llevar a cabo más estudios, lo cual redundaría en el diseño de algún método de control inmunoproláctico.

SUMMARY

In order to know the immunologic competence in *Haemonchus contortus* infected sheep, the following

responses were determined: 1) to the inoculation of a thymus-dependent antigen, chicken erythrocytes (CE), in terms of antibody production (independently of those antibodies generated against the parasite) and, 2) to the intradermal (ID) injection of a nonspecific mitogen of T and B cells, the Phytohemagglutinin (PHA). Ten sheep, from 8 to 24 months of age and helminth free, were distributed at random in two groups: one control (A, n = 6) and one infected (B, n = 4) with 10,000 L3 of *H. contortus*/ovine by oral route. Hematologic, coprologic and serologic samples were taken from the animals every 7 days during 8 weeks; starting one week before infection. Besides, skin thickness was determined 24 hours after ID injection of PHA. Similarly, CE (2×10^6 cells/sheep/intravenously) were administered in a single dose on the 10th day after infection (a.i.). Animals in group B started to eliminate parasite eggs on day 21 a.i. and, from that day on, the hematologic parameters evaluated (erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, and plasma protein) diminished as compared with the control group. On the other hand, an increase of the anti-*H. contortus* antibody titer (as determined by the indirect haemoagglutination test using an extract from L3 as antigen) was observed in animals of B group, starting on day 21 a.i. The anti-CE antibody response (evaluated by the direct haemoagglutination test), significantly increased ($P < 0.05$) in animals of group A, as compared with those of B, on days 28 and 35 a.i. Similarly, the ID reaction to PHA, was significantly diminished ($P < 0.05$) in infected animals on days 21 and 42 a.i. The results obtained at the moment, suggest that *H. contortus* modulates the immune response in those sheep which infects.

LITERATURA CITADA

1. ADAMS, D.B., 1983 Observations on the self-cure reactions and other forms of immunological responsiveness against *Haemonchus contortus* in sheep. *Int. J. Parasitol.* 13:571.
2. ALLONBY, E.W. and URQUHART, G.M., 1973. Self-cure of *Haemonchus contortus* infections under field conditions. *Parasitology* 66:43.
3. AMBROSIO, H.J. y BAUTISTA G., C.R. 1986. Determinación de antígenos comunes entre el nemátodo abomasal *Haemonchus contortus* y ovinos Pelibuey (*Ovis aries*). Memorias del VII Congreso Nacional de Parasitología, Soc. Mex. Parasitol., Puebla, Pue. 45.
4. BARGER, I.A. and LE JAMBRE, L.F. 1986. Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep: mortality of established worms. *Int. J. Parasitol.* 18:269.
5. BAUTISTA, C.R. 1986. Prueba de hemoaglutinación pasiva o indirecta. En: MORILLA, A. y BAUTISTA, C.R. (eds.) Manual de Inmunología. Primera edición, Diana, México, D.F. P. 81.

6. BENJAMIN, M.H. 1984. Manual de Patología Clínica en Veterinaria. *Limusa*, México, D.F. P. 40.
7. CAMPOS R., R. 1989. Resistencia de *Haemonchus contortus* a los benzimidazoles en ovinos en México. Tesis de Maestría. *Fac. Med. Vet. y Zoot.*, UNAM, México, D.F.
8. CHARLEY, C.J., LUFFAU, B.G. and PERY, P. 1981. Immune response of sheep to *Haemonchus contortus*: serum antibodies against cross reacting antigens between parasites. *Ann. Rech. Vet.* 12:123.
9. CHRISTIE, M.G., HART, R., ANGUS, K.W., DEVOUY, J. and PETERSON, J.E. 1978. Resistance to *Haemonchus contortus* in sheep given repeat daily doses of 10,000 infective larvae. *J. Comp. Path.* 88:157.
10. DANIEL, W.W. 1977. Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud. Ed. *Limusa*, México, D.F. P. 132.
11. DARGIE, J.D. 1973. Epidemiology, clinical signs and diagnosis. In: URQUHART, G.M. and ARMOUR, J. (eds.) *Helminth Diseases of Cattle, Sheep and Horses in Europe*. Glasgow, Scotland. P. 59.
12. GASBARRE, L.C., ROMANOWSKA, R.O. and DOUVRES, F.W. 1985. Suppression of antigen - and mitogen- induced proliferation of bovine lymphocytes by excretory-secretory products of *Oesophagostomum radiatum*. *Infect Immun.* 48:540.
13. GIBBS, H.C. and BARGER, I.A. 1986. *Haemonchus contortus* and other trichostrongylid infections in parturient, lactating and dry ewes. *Vet. Parasitol.* 22:57.
14. GORRELL, M.D., MILLER, H.R.P. and BRANDON, M.R. 1988. Lymphocyte phenotypes in the abomasal mucosa of sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunol.* 10:661.
15. JACOBS, R.M., VALLI, V.E.O. and WILKIE, B.N. 1981. Response of cows with lymphoma to the intradermal injection of tumor cell antigens and phytohemagglutinin. *Can. J. Comp. Med.* 45:43.
16. KELLY, K.W., GREENFIELD, R.E., EVERMANN, J.F., PARISH, S.M. and PERRYMAN, L.E. 1982. Delayed-type hypersensitivity, contact sensitivity, and phytohemagglutinin skin-test responses of heat - and cold-stressed calves. *Am. J. Vet. Res.* 43:775.
17. LUFFAU, G., PERY, P. and PETIT, A. 1981. Self-cure and immunity following infection and reinfection in ovine haemonchosis. *Vet. Parasitol.* 9:57.
31. WEDRYCHOWICZ, H. and BEZUBIK, B. 1981. Studies on the antigens of *Ostertagia circumcincta*. I. Somatic antigens of infective larvae. *Acta Parasitol Polon.* 28:243.
19. NGUYEN, T.C. 1983-1984. The immune response in sheep: Analysis of age, sex and genetic effects on the quantitative antibody response to chick red blood cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 5: 237.
20. OROZCO, A. M. 1986. Efecto de la infección experimental por *Fasciola hepatica* en ovinos sobre la respuesta inmune humoral a antígenos timo-dependientes. Tesis de Licenciatura. *Fac. Est. Sup. Cuautitlán*, UNAM, Estado de México.
21. PETIT, A., PERY, P. and LUFFAU, G. 1981. Circulating antigens in ovine haemonchosis. *Ann. Rech. Vet.* 12:1.
22. PRITCHARD, N.M., ALI, N.M.H. and BEHNKE, J.M. 1984. Analysis of mechanism of immunodepression following heterologous antigenic stimulation during current infection with *Nematospiroides dubuis*. *Immunology* 51:633.
23. RUIZ-NAVARRETE, A. 1986. Métodos de determinación de proteína. En: MORILLA, A. y BAUTISTA, C.R. (eds.) *Manual de Inmunología*. Primera edición, *Diana*, México, D.F. P. 388.
24. SCHILLHORN VAN VENN, T.W. and OGUNSUSI, R.A.A. 1978. Periparturient and seasonal rise in the trichostrongylid egg output of infected ewes during the season in Northern Nigeria. *Vet. Parasitol.* 4:377.
25. SMITH, W.D. 1977. Antilarval antibodies in the serum and abomasal mucus of sheep hyperinfected with *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.* 22:334.
26. SOULSBY, E.J.L. 1966. *Biology of parasites*. Academic Press, N.Y., U.S.A. P. 79.
27. SOULSBY, E.J.L. 1987. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7a. Ed. *Interamericana*. México, D.F. P. 36.
28. STEWART, D.F. 1950. Studies on resistance of sheep to infestation with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus* spp. and on the immunological reactions of sheep exposed to infestation. *Aus. J. Agric. Res.* 1:301.
29. THIEPONT, D., ROCHETTE, F. and VANPARIJUS, O.F.J. 1979. *Diagnosing helminthiasis through coprological examination*. 1st Ed. *Janssen Research Foundation*, Beerse, Belgium. P. 36.
30. WAKELIN, D. 1989. Nature and nurture: overcoming constraints of immunity. *Parasitology* 99:S21.
18. MILLER, H.R.P., JACKSON, F., NEWLANDS, G. and APPELYARD, W.T. 1983. Immune exclusion, a mechanism of protection against the ovine nematode *Haemonchus contortus*. *Res Vet. Sci.* 35:357.