



Asociación Mexicana de  
Parasitólogos Veterinarios, A.C.



# Memorias del XI Congreso Nacional De Parasitología Veterinaria



Conferencias Magistrales  
Simposios  
Trabajos libres

28-30 de Agosto de 2019  
Monterrey, Nuevo León  
FMVZ - UANL



SENASICA



CONFEDERACIÓN NACIONAL DE ORGANIZACIONES GANADERAS

INFAVET - CANIFARMA  
INDUSTRIA FARMACÉUTICA VETERINARIA



**XI CONGRESO NACIONAL DE  
PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

**CONSEJO DIRECTIVO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA  
DE PARASITÓLOGOS VETERINARIOS, A.C.**

**Dra. María Eugenia López Arellano  
Presidenta**

**Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla  
Secretario**

**Dra. Liliana Aguilar Marcelino  
Tesorera**

**Dr. Carlos Cruz Vázquez**

**Dr. Sergio Cueto González**

**Dr. Octavio Merino Charrez**

**Dra. Nadia Ojeda Robertos**

**Dr. Héctor Quiroz Romero**

**Vocales**



# **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

## **COMITÉ ORGANIZADOR DEL XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

**Dra. María Eugenia López Arellano**

**Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla**

**Dra. Liliana Aguilar Marcelino**

**Dr. Juan José Zárate Ramos**

**Dr. Jorge Alfredo Cuéllar Ordaz**

**Dra. Rosa María Sánchez Casas**

**MVZ. EPA. Eduardo Ramírez España**

**M. en C. Cecilia Zapata Campos**

**Dr. Julio Vicente Figueroa Millán**

**M. en C. Francisco Martínez Ibáñez**

**Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz**



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Octavio Merino Charrez	UAT
Dr. Carlos Cruz Vázquez	TECNM
Dr. Roger Iván Rodríguez Vivas	UADY
Dr. Rubén Hernández Ortiz	INIFAP
Dra. Dora Romero Salas	UV
M. en C. Francisco Martínez Ibañez	SENASICA
Dra. Edelmira Galindo Velasco	UCOL
M. en C. Uriel Mauricio Valdez Espinoza	INIFAP
Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla	INIFAP
Dr. Jorge Rodríguez Rojas	UANL
M. en C. Andrea González Báez	UANL
Dra. Heidi Rodríguez Ramírez	UANL
Dr. Marco Cantú Martínez	UANL
Dra. Rosa María Sánchez Casas	UANL
Dr. Juan José Zárate Ramos	UANL
Dr. Agustín Olmedo Juárez	INIFAP
M. en C. Cecilia Zapata Campos	UAT
Dr. Felipe Torres Acosta	UADY
Dr. Hugo Aguilar Díaz	INIFAP
Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo	UNAM



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito	<b>UAQ</b>
Dr. Juan Pablo Martínez Labat	<b>UNAM</b>
Dr. Pedro Mendoza de Gives	<b>INIFAP</b>
Dr. Roberto González Garduño	<b>UACH- CRUSE</b>
Dr. Sergio Cueto González	<b>UABC</b>
Dr. Jorge Tórtora Pérez	<b>UNAM</b>
Dra. Elke von Son de Fernex	<b>UNAM</b>
Dra. Gloria Sarahi Castañeda Ramírez	<b>INIFAP</b>
Dra. Liliana Aguilar Marcelino	<b>INIFAP</b>
Dra. María Eugenia López Arellano	<b>INIFAP</b>
Dra. Matilde Jiménez Coello	<b>CIR-UADY</b>
IBT. David Emanuel Reyes Guerrero	<b>INIFAP</b>
M.B. Jocelyn Maza López	<b>INIFAP</b>
M. en C. Rosa Isabel Higuera Piedrahita	<b>UNAM</b>
Dra. Yazmín Alcalá Canto	<b>UNAM</b>



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## COMITÉ EDITORIAL

Dra. María Eugenia López Arellano

Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla

Dr. Carlos Cruz Vázquez

MVZ. Nayely Teresa Martínez Maza

IBT. Marilyn Cedillo Borda

MVZ. René Camas Pereyra

Dra. Gloria Sarahi Castañeda Ramírez



**Código de registro: PR 002/19**

El contenido y redacción de los documentos incluidos en esta memoria electrónica son responsabilidad de sus autores. Jiutepec, Morelos, México. Agosto 2019.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## INSTITUCIONES Y EMPRESAS PARTICIPANTES

La Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios, A.C., hacen patente su reconocimiento a las Instituciones y Empresas que patrocinaron y participaron en el XI Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria.



**Universidad Autónoma de Nuevo León**



**Universidad Nacional Autónoma de México**



**Instituto Nacional de Investigaciones Forestales,  
Agrícolas y Pecuarias**



**Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad  
Agroalimentaria**

**SENASICA**



**Monterrey, Nuevo León, México**



**Lapisa**



**Bayer**



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



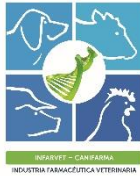
**Comisión de Parasiticidas**



**Laboratorio Central Regional del Norte**



**Laboratorios Sanfer**



**Industria Farmacéutica Veterinaria**



**Norvet**



**Confederación Nacional de Organizaciones  
Ganaderas**



**Laboratorios Tornel**





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PRESENTACIÓN DEL CONGRESO Y BIENVENIDA

La importancia de los parásitos y las enfermedades que éstos provocan son ampliamente reconocidas a nivel mundial. Sin embargo, y a pesar del desarrollo científico en el área de las Ciencias Médicas, la parasitología sigue siendo un problema de actualidad por diversas causas; tópicos como resistencia antiparasitaria, desarrollo de nuevos fármacos y vacunas, zoonosis, inocuidad alimentaria, vectores, y enfermedades emergentes, así como los problemas actuales debido a cambios climáticos, representan parte de los temas a tratar por profesionistas asociados a la parasitología y salud animal. En nuestra Asociación, estos temas son atendidos, pero debemos de profundizar más para afrontar los problemas, y en este punto es importante la difusión y socialización del concepto Bienestar Animal que se relaciona con otras áreas en salud humana y ambiental.

La Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios A.C. (AMPAVE) desde su creación en 1972 y hasta la fecha, aborda las demandas nacionales y participa en temas de vanguardia a nivel mundial que son preocupación constante. De ésta forma la AMPAVE ha representado con responsabilidad e interés en los diversos sectores de especialistas en parasitología, que, sin fines de lucro, han reunido esfuerzos para llevar a cabo el Congreso Nacional de la AMPAVE, atendiendo el problema de las parasitosis a través de foros de difusión científica. Así mismo, es importante hacer un reconocimiento a las mesas Directivas de la AMPAVE a lo largo de su historia de 47 años, quienes han trabajado en la organización de reuniones anuales en su inicio y posteriormente en los congresos científicos en forma bianual. También hay que recordar que AMPAVE es una de las asociaciones especialistas en Medicina Veterinarias más antiguas de México, y su actividad académica y de actualización en el área de parasitología ha tocado numerosos puntos de la geografía nacional, interactuando siempre con Facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia y Centros de Investigación del país, así como con el sector productivo, autoridades sanitarias e industria farmacéutica. En este mismo orden de ideas, nuestra gratitud a la activa participación de productores y organismos de la industria farmacéutica quienes han fortalecido este congreso por años, involucrándose cada vez más de diversas formas.

Este año, la sede de nuestro Congreso se llevará a cabo en el Estado de Nuevo León, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, que con orgullo nos abre sus puertas para llevar a cabo el XI Congreso Nacional de nuestra Asociación, la cual trabaja todos los días para



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

desarrollar nuevas estrategias de estudio que contribuyan en el conocimiento de la parasitología en las diferentes especies animales, a quienes les debemos el Bienestar. Consideramos importante mencionar que en esta ocasión se realizará un merecido reconocimiento al Dr. Héctor Quiroz Romero, miembro fundador del AMPAVE, por sus aportaciones científicas en la parasitología. Por esto y muchas cosas más, estimados congresistas les damos la bienvenida y agradecemos el entusiasmo y colaboración para llevar a cabo nuestro congreso, todos somos parte de la AMPAVE y debemos seguir fortaleciendo el estudio de la Parasitología para contribuir a mejorar la salud integral a través de la salud humana, animal y medio ambiente.

Atentamente

El Comité Organizador



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### RECONOCIMIENTO ACADÉMICO AMPAVE 2019

### SEMBLANZA DEL DR. HÉCTOR QUIROZ ROMERO



Héctor Manelic Quiroz Romero, nació en 1936 en la Ciudad de México. Estudio la secundaria y el bachillerato en la Escuela Nacional Preparatoria No 2 de la UNAM. Los estudios profesionales los llevo a cabo en la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM., de la que egresó en 1961. Se inició en la docencia e investigación como ayudante de profesor honorario en

1960 al lado del Dr. Manuel Chavarría, Jefe del Departamento de Parasitología en ese entonces. En 1962 pasó a ser profesor adjunto y en 1963 ganó el concurso de oposición de las asignaturas de Parasitología Veterinaria y de Enfermedades Parasitarias.

En su trabajo profesional fue responsable de la Sección de Parasitología, en el Laboratorio Químico Biológico, de la Secretaria de la Defensa Nacional, como Mayor Médico Veterinario, en donde realizaba diagnóstico e investigación de las parasitosis en caballos. Posteriormente, en 1969 ingresó al Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) como investigador del Departamento de Microbiología y luego como Jefe y fundador del Departamento de Parasitología de dicho Instituto, en donde se realizaron proyectos de investigación sobre Epidemiología, Quimioterapia y Control de Babesiosis, Anaplasmosis, Fasciolosis y Nematodosis Gastrointestinales y Pulmonares en ganado bovino, ovino y caprino.

En 1973 fue nombrado Director de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, durante este periodo se hicieron las adecuaciones para el plan de estudios por objetivos, se Inició el sistema de Universidad Abierta en la especialidad en Aves, Patología y Bovinos. Además, se dio comienzo al proyecto con expertos de la FAO-PNUD, para el apoyo al posgrado en la Facultad; se dio inicio junto con la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Recursos Hidráulicos en ese entonces, al Proyecto: “Producción de leche en el trópico,” en un predio donado por dicha dependencia a la UNAM, denominado como “Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical” en Tlapacoyan, Veracruz. De 1973 a la fecha ha sido profesor de tiempo completo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, en donde fue Consejero Técnico, Consejero Universitario, Miembro de la Comisión Dictaminadora y Director, así como Jefe del Departamento de



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

Parasitología en tres ocasiones, Jefe de la División de Estudios de Posgrado y posteriormente Secretario de Planeación.

Durante 1965-66 realizó una estancia con beca del Gobierno Francés, para efectuar estudios en Parasitología, en la Ecole National Vétérinaire, en Maison Alfort, París, Francia, bajo la dirección del Dr. J. Guilhon. En 1967-68 fue alumno en la Maestría en Ciencias Médicas en la Facultad de Medicina, de la UNAM., bajo la dirección del Dr. Francisco Biagi, en donde trabajó sobre inmunología de parásitos. En 1980-81 obtuvo una beca del gobierno Francés, durante su año sabático para colaborar con el Dr. J. Euzeby en la Ecole National Vétérinaire de Lyon, Francia, durante ese periodo escribió el libro “Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos,” Ed. Limusa, de distribución en Iberoamérica, que ha servido de libro de texto en varios países de habla española. En 1993-94 obtuvo una beca para colaborar durante su año sabático en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en León, España, con la Dra. Y. Manga sobre el Control de la Dicroceliosis en ganado ovino. En 2002 obtuvo el grado de Doctor por la UNAM.

Durante su vida profesional ha impartido dos asignaturas de licenciatura y cinco de posgrado, además ha dirigido 224 tesis de licenciatura, 42 de posgrado y actualmente dirige tres de doctorado. Es autor de un libro y coautor, coordinador y editor de 28 libros y manuales. Ha publicado 99 artículos de parasitología en revistas arbitradas o indizadas, ha escrito 63 capítulos de libros y de manuales de enseñanza. Además, ha impartido más de 300 conferencias nacionales e internacionales, principalmente en instituciones universitarias, laboratorios farmacéuticos y asociaciones de ganaderos. De 1970 a la fecha ha sido responsable de 31 proyectos de investigación con financiamiento oficial o privado sobre: Anaplasmosis, Babesiosis, Nematodosis Gastrointestinales y Pulmonares, Fasciolosis, Moscas hematófagas y Garrapatas en ganado bovino, ovino y caprino. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores CONACyT nivel III.

En su trayectoria profesional, ha recibido 50 distinciones científicas o profesionales, otorgadas por organismos nacionales e internacionales, entre las que destacan: El Comité organizador de la XIX Olimpiada celebrada en la Ciudad de México, quien otorgó diploma y medalla, por la participación profesional en el Servicio Médico de Ecuestres, octubre de 1968. Recibió el Premio Nacional de Sanidad Animal, otorgado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, el 21 de noviembre de 2012, así como el reconocimiento internacional de la “World Federation of Parasitologist.” AFP Premio de Parasitólogo Distinguido (Distinguished Parasitologist Award 2014, President of the Word Federation of Parasitologist, signature).

Es miembro y expresidente de la Academia Veterinaria Mexicana, miembro de la Academia Mexicana de Ciencias, miembro correspondiente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España y de las siguientes Asociaciones: Sociedad Mexicana de Parasitología (expresidente), Asociación Mexicana de Parasitólogos



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

Veterinarios (expresidente), Presidente de Honor de la Sociedad de Parasitología de Cuba, miembro de la Sociedad de Parasitólogos Españoles, de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Bovinos, de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology y de la Sociedad Mexicana de Historia de la Medicina Veterinaria (expresidente).

Actualmente es profesor de tiempo completo en su calidad de emérito, imparte la asignatura de Epidemiología de las Enfermedades Parasitarias y es tutor principal de tres alumnos de doctorado y uno de maestría, en el posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Índice

<b>CONFERENCIAS MAGISTRALES.....</b>	<b>21</b>
CONTROLE DE NEMATÓIDES EM RUMINANTES COM EXTRATO DE FUNGOS, EXTRATOS DE PLANTAS E MICONANOTECNOLOGIA .....	21
ECOLOGIA DE PARASITOS DE PECES.....	31
EXPERIENCIAS EN EL USO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE DE Bm86 CONTRA LA GARRAPATA <i>Rhipicephalus microplus</i> EN MÉXICO .....	33
<b>SIMPOSIO NACIONAL SOBRE MOSCAS QUE AFECTAN AL GANADO.....</b>	<b>40</b>
ACTUALIZACIÓN DE DÍPTEROS: <i>Haematobia spp</i> Y SU CONTROL BIOLÓGICO. ....	40
GENERALIDADES EN EL CONTROL DE MOSCAS PICADORAS CUANDO FALLAN LOS INSECTICIDAS EN UN ESTABLECIMIENTO DE BOVINOS LECHEROS.....	44
MOSCAS DEL CUERNO: EVALUACION DE PRODUCTOS PARA SU CONTROL Y RESISTENCIA EN MEXICO. ....	51
<b>SIMPOSIO ALGUNAS PARASITOSIS DESDE EL ENFOQUE DE “UNA SALUD” .....</b>	<b>62</b>
ZONOSIS PARASITARIAS DESDE EL ENFOQUE DE “UNA SALUD” EN EL ÁMBITO EDUCATIVO. ....	62
LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA CANINA: SITUACIÓN ACTUAL EN MÉXICO Y ESTRATEGIAS PARA SU CONTROL.....	69
LEISHMANIASIS ZONÓTICA EN MÉXICO.....	80
<b>SIMPOSIO NUEVO ENFOQUE EN EL ESTUDIO INTEGRAL DE LAS HELMINTIASIS.....</b>	<b>89</b>
CITOCINAS Y HORMONAS INVOLUCRADAS EN LA RESPUESTA DEL HOSPEDADOR A LA HEMONCOSIS OVINA.....	89
LA INTERACCIÓN INMUNOENDOCRINOLÓGICA Y SU RELACIÓN CON LAS INFECCIONES PARASITARIAS.....	99
FASCIOLICIDAS BENCIMIDAZÓLICOS INYECTABLES COMO ALTERNATIVA DE CONTROL EN LA FASCIOSIS DEL GANADO.....	103
INTEGRACIÓN DE ESTRATEGIAS DE CONTROL DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN OVINOS.....	111
INTEGRACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN EL MODELO DE PARICIONES ACELERADAS EN OVEJAS DE PELO .....	120



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

<b>SIMPOSIO FORO DE GARRAPATAS (Bayer)</b> .....	<b>127</b>
MONITOREO NACIONAL DE LA RESISTENCIA DE <i>Rhipicephalus microplus</i> A LOS ACARICIDAS CONVENCIONALES (COUMAFOS, AMITRAZ Y FLUMETRINA) E IVERMECTINA EN RANCHOS BOVINOS DE MEXICO .....	127
NUEVAS ALTERNATIVAS A UTILIZAR DENTRO DE UN CONTROL INTEGRADO DE LA GARRAPATA <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	128
RESPUESTA TOXICOLOGICA DE DIFERENTES GENEROS Y ESPECIES DE GARRAPATAS IXODIDAS COLECTADAS EN MÉXICO. ....	139
VETERINARY INDUSTRY AND TICK CONTROL IN CATTLE.....	146
<b>SIMPOSIO CAMBIO CLIMÁTICO Y SUSTITUCIÓN DE NICHOS ECOLÓGICOS</b> .....	<b>148</b>
INSECTICIDAS DE NUEVA GENERACIÓN: HACIA LA IDENTIFICACIÓN DE NEUROPEPTIDOS DE MOSQUITOS COMO CANDIDATOS A BIO-INSECTICIDAS.....	148
NUEVAS ESTRATEGIAS PARA INTERRUMPIR LA TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR ARTRÓPODOS.....	159
EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES.....	164
<b>SIMPOSIO PROTOZOOSIS PARASITARIAS</b> .....	<b>171</b>
ACTUALIDADES EN EL CONTROL DE LA COCCIDIOSIS OVINA Y CAPRINA.....	171
<i>Neospora caninum</i> EN MÉXICO: QUE SABEMOS Y A DONDE VAMOS .....	178
AVANCES EN EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA PROTOZOARIOS EN RUMIANTES	183
<b>TRABAJOS LIBRES</b> .....	<b>189</b>
<b>SECCIÓN I. PROTOZOARIOS</b> .....	<b>189</b>
DETECCIÓN DE <i>Babesia</i> spp EN PEQUEÑOS RUMIANTES EN CULIACÁN, SINALOA .....	189
ENCUESTA MOLECULAR PARA DETECTAR <i>Babesia microti</i> EN ROEDORES SILVESTRES DE LOS ESTADOS DE MÉXICO, GUERRERO Y MICHOACÁN, MÉXICO. ....	193
IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE <i>Eimeria</i> PRESENTES EN CABRAS ( <i>Capra hircus</i> ) EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN .....	194
<i>Neospora caninum</i> EN PERROS DE ÁREAS RURALES DEL ESTADO DE AGUASCALIENTES, MÉXICO .....	198
CLASIFICACIÓN MORFOMÉTRICA Y FRECUENCIA DE <i>Eimeria</i> spp. EN CORDEROS DEL ALTIPLANO Y SU RELACIÓN CON HEMATOCRITO Y PROTEINA PLASMÁTICA .....	202
EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA PROTEÍNA QUIMÉRICA MULTIEPITÓPICA CHP1.9 COMO ANTÍGENO VACUNAL CONTRA <i>Babesia bigemina</i> .....	208
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE <i>ANAPLASMA</i> spp. EN VENADOS COLA BLANCA ( <i>Odocoileus virginianus</i> ) EN CAUTIVERIO, EN SINALOA. ....	209



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

COMPORTAMIENTO DE LOS ANTICUERPOS ANTI- <i>Neospora caninum</i> DURANTE LA GESTACION EN VACAS EN RELACION CON EL ABORTO .....	214
PRESENCIA DE <i>Balantidium caviae</i> EN COBAYOS HARTLEY ( <i>Cavia porcellus</i> ) DE BIOTERIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO .....	215
COMPORTAMIENTO INMUNOLÓGICO EN VACAS LECHERAS NATURALMENTE INFECTADAS POR <i>Neospora caninum</i> ASOCIADAS A LA PRESENCIA DE AFLATOXINAS ..	216
PREVALENCIA DE <i>Cryptosporidium</i> EN BECERROS Y SUS MADRES EN EL MUNICIPIO DE EL LLANO AGUASCALIENTES, MÉXICO .....	217
IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE <i>Neospora</i> spp EN CABALLOS EN LA REGIÓN CENTRO- OCCIDENTE DE MEXICO .....	218
RECONOCIMIENTO DE LAS PROTEÍNAS RECOMBINANTES MSA-1 Y RAP-1 EN OVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE .....	219
EVALUACIÓN DE LOS ANTÍGENOS RECOMBINANTES RAP-1 Y 12D3 DE <i>Babesia bigemina</i> PARA EL INMUNODIAGNÓSTICO DE LA BABESIOSIS BOVINA .....	224
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL ANTÍGENO DE MEMBRANA APICAL 1 (AMA-1) DE <i>Babesia vogeli</i> : RESULTADOS PRELIMINARES.....	229
DETECCIÓN DE <i>Neospora caninum</i> POR PCR EN LEUCOCITOS DE VACAS LECHERAS DEL SISTEMA FAMILIAR.....	230
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE HEMOPARÁSITOS EN EQUINOS DE CULIACÁN SINALOA .....	236
PRESENCIA DE <i>Cryptosporidium</i> spp EN EL AMBIENTE DE UN AREA DE RECRÍA DE GANADO LECHERO .....	241
EVALUACIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS AL DESAFÍO DE BOVINOS INMUNIZADOS CON LA PROTEÍNA ENOLASA DE <i>B. bigemina</i> .....	242
INSTRUMENTACIÓN DE UNA PRUEBA DE ELISA PARA IDENTIFICAR ANIMALES EXPUESTOS A <i>Babesia bigemina</i> .....	247
MONITOREO CLÍNICO Y SEROLÓGICO DE BOVINOS ESPLENECTOMIZADOS E INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON <i>Babesia bovis</i> Y <i>Babesia bigemina</i> .....	253
<b>SECCIÓN II. HELMINTOS .....</b>	<b>258</b>
DETERMINACIÓN DEL MANEJO PARASITARIO DIFERENCIADO POR RAZA EN INFECCIONES POR NEMATODOS GASTROINTESTINALES A PARTIR DE UMBRALES CLÍNICOS EN PRODUCCIONES OVINAS .....	258
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA <i>in vitro</i> DE FILTRADOS DE CULTIVO DE HONGOS NEMATÓFAGOS CONTRA LARVAS INFECTANTES DE <i>Haemonchus contortus</i> ....	259
FRECUENCIA DE HUEVOS DE PARASITOS GASTROINTESTINALES EN CABRAS DEL ALTIPLANO DE TAMAULIPAS, MÉXICO .....	260





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

RECONOCIMIENTO DE LOS ANTÍGENOS DE EXCRECIÓN Y SECRECIÓN DEL NEMATODO <i>Haemonchus placei</i> (L <sub>4</sub> ) POR IgG DE BOVINO .....	266
MIGRACIÓN VERTICAL DE LARVAS INFECTIVAS DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE BOVINOS EN PASTOREO EN VERACRUZ, MÉXICO .....	270
COMPARACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INFECCIÓN POR NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN OVINOS DE DIFERENTES RAZAS.....	271
FRECUENCIA DE <i>Ostertagia</i> Y OTROS NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN BOVINOS LOCALIZADOS EN TEXCOCO, MÉXICO .....	272
CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE P-GLICOPROTEÍNAS EN LARVAS INFECTANTES (L <sub>3</sub> ) DE <i>Haemonchus contortus</i> RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE A IVERMECTINA.....	273
MÉTODO FAMACHA®, CONDICIÓN CORPORAL Y CONTEO DE HUEVOS DE NEMATODOS EN HECES, COMO CRITERIOS DE DESPARASITACIÓN SELECTIVA EN CABRAS DE CD. VICTORIA, TAM.....	277
CISTICERCOSIS VISCERAL POR <i>Cysticercus tenuicollis</i> EN UN <i>Oryx dammah</i> EN CAUTIVERIO: REPORTE DE UN CASO .....	278
PERSISTENCIA DEL EFECTO CONTROLADOR DE TRES FORMULACIONES DEL HONGO NEMATÓFAGO <i>Duddingtonia flagrans</i> EN OVINOS DE LANA.....	283
SUCEPTIBILIDAD DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES A NITRONIXIL EN REBAÑOS OVINOS DE CUNDINAMARCA, COLOMBIA.....	284
EVIDENCIA DE DAÑO HEPÁTICO PRODUCIDO POR LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE CORDEROS CON <i>Taenia hydatigena</i> .....	285
ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>Theobroma cacao</i> CONTRA HUEVOS DE <i>Haemonchus contortus</i> .....	286
ACTIVIDAD OVICIDA <i>in vitro</i> DE UN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE <i>Artemisia ludoviciana</i> SOBRE <i>Haemonchus contortus</i> .....	287
EFFECTO DEL TRATAMIENTO PERINATAL CON BISFENOL A SOBRE LA RESPUESTA INMUNE Y LA SUSCEPTIBILIDAD A LA TOXOCARIASIS POR <i>Toxocara canis</i> .....	288
ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA <i>in vitro</i> DE UN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA PLANTA <i>Prosopis laevigata</i> CONTRA LARVAS INFECTANTES DE <i>Haemonchus contortus</i> .	289
VIABILIDAD Y PATOGENICIDAD DE METACERCARIAS DE <i>Fasciola hepatica</i> EN INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATONES BALB/C.....	290
CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS EN LAS GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES DE CONEJOS NUEVA ZELANDA INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON HUEVOS DE <i>Taenia pisiformis</i> .....	291
ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE <i>Petiveria alliacea</i> Y <i>Diospyros anisandra</i> SOBRE LA ECLOSIÓN Y DESARROLLO LARVAL DE <i>Ancylostoma</i> spp. ....	296



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE <i>Casearia corymbosa</i> , <i>Havardia albicans</i> , Y <i>Capraria biflora</i> CONTRA HUEVOS DE <i>Ancylostoma</i> spp. ....	297
ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA <i>in vitro</i> DE EXTRACTOS DE HOJAS DE <i>Theobroma cacao</i> CONTRA LARVAS INFECTANTES DE <i>Haemonchus contortus</i> . ....	298
RESPUESTA INMUNE DE OVINOS A LA INFECCIÓN CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES. ....	299
PRESENCIA DE <i>Lernaea cyprinacea</i> EN AXOLOTE SERRANO ( <i>Ambystoma velasci</i> ) EN EL MUNICIPIO DE ATLANGATEPEC EN TLAXCALA, MÉXICO. ....	303
CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS EN LAS GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES DE CONEJOS NUEVA ZELANDA OBESOS INFECTADOS CON HUEVOS DE <i>Taenia pisiformis</i> . ....	304
PARASITISMO GASTROINTESTINAL DE BECERROS Y BUCERROS CRIADOS EN UN SISTEMA DE PASTOREO MIXTO. ....	308
PARÁSITOS GASTROINTESTINALES PRESENTES EN PERROS DEL LA CIUDAD DE AGUASCALIENTES, MÉXICO. ....	309
IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN RANA TORO ( <i>Lithobates catesbeianus</i> ) EN GRANJAS ACUÍCOLAS DE 3 ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA ....	313
SARCOMA ESOFÁGICO ASOCIADO A UNA INFECCIÓN POR <i>Spirocerca lupi</i> EN UN PERRO MESTIZO. ....	314
ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE IVERMECTINA EN EMULGEL APLICADO TÓPICAMENTE CONTRA LARVAS DE <i>Ancylostoma caninum</i> EN RATONES MACHOS CD1 CON INFECCIÓN INDUCIDA. ....	319
HALLAZGO DE <i>Ozolaimus megatyphlon</i> EN IGUANAS ( <i>Iguana iguana</i> ) DE UNA HUMA DE MERIDA, YUCATÁN. ....	320
ACTIVIDAD DE IVERMECTINA AL 0.5% EN EMULGEL, APLICADO TÓPICAMENTE CONTRA LARVAS DE <i>Toxocara canis</i> EN RATONES MACHOS CON INFECCIÓN INDUCIDA. ....	321
EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE CUATRO PRODUCTOS COMERCIALES CONTRA <i>Ancylostoma caninum</i> y/o <i>Toxocara canis</i> EN PERROS INFECTADOS NATURALMENTE. ....	322
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA REGIÓN VULVAR DE HEMBRAS ADULTAS DE <i>Haemonchus contortus</i> : CEPA MEXICANA. ....	323
ACTIVIDAD DE FACTORES INMUNES EN RESPUESTA AL PRODUCTO DE EXCRECIÓN Y SECRECIÓN DE 70 kDa DE <i>Haemonchus placei</i> L <sub>4</sub> . ....	324
REDUCCIÓN DE UNA POBLACIÓN DE <i>Haemonchus contortus</i> (L3) EN PASTO POR ACCIÓN DEPREDAORA DEL NEMATODO CANÍBAL <i>Butlerius</i> sp. EN MICROPARCELAS. ....	328
MIGRACIÓN VERTICAL DE <i>Haemonchus contortus</i> (L3) SOBRE PASTO <i>Pennisetum purpureum</i> BAJO CONDICIONES SUBTROPICALES EN MÉXICO. ....	329
EFFECTO <i>in vitro</i> DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE <i>Neolentinus ponderosus</i> SOBRE EL NEMATODO <i>Haemonchus contortus</i> (.....	330



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

EFFECTO <i>in vivo</i> DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE <i>Neolentinus ponderosus</i> SOBRE EL NEMATODO <i>Haemonchus contortus</i> (L3).....	335
EVALUACIÓN DE TRES DOSIS INFECTIVAS SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE <i>Taenia hydatigena</i> EN PERROS .....	339
ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA <i>in vitro</i> DE FILTRADOS LÍQUIDOS DE CULTIVO Y EXTRACTOS ORGÁNICOS DE MICELIO DE HONGOS NEMATÓFAGOS CONTRA <i>Haemonchus contortus</i> .....	344
EVALUACIÓN PARASITOLÓGICA Y DE RESPUESTA INMUNE HUMORAL INDUCIDA POR UNA PROTEÍNA QUIMÉRICA CONTRA FASCIOSIS EN OVINOS. ....	345
VIABILIDAD DE HUEVOS DE <i>F. hepatica</i> EN OVINOS INMUNIZADOS CON UNA PROTEÍNA QUIMÉRICA.....	346
ACTIVIDAD NEMATICIDA DEL EXTRACTO DE HOJAS DE <i>Moringa oleifera</i> CONTRA EL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS <i>Haemonchus contortus</i> .....	347
ACTIVIDAD NEMATICIDA DEL EXTRACTO DE SUSTRATO AGOTADO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> CONTRA EL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS <i>Haemonchus contortus</i> .....	352
EFFECTIVIDAD DEL SISTEMA FAMACHA® COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO EN CABRAS ALPINA FRANCESA BAJO CONDICIONES DE CLIMA.....	357
PERFILES DE TRANSCRIPCIÓN DEL TRANSPORTADOR <i>P-gp</i> EN DIFERENTES ESTADIOS DE DOS AISLADOS DE <i>Haemonchus contortus</i> SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE A IVERMECTINA .....	358
EVALUACIÓN DE UN ELICITOR DE COMPUESTOS NEMATICIDAS EXTRACELULARES EN EL HONGO <i>Duddingtonia flagrans</i> .....	362
PREVALENCIA DE <i>Haemonchus contortus</i> EN CORDEROS EN DOS ÉPOCAS DEL AÑO EN EL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA.....	363
HALLAZGO A LA NECROPSIA DE <i>Oxispirura</i> spp. EN GALLO DOMÉSTICO ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) EN LA RANCHERÍA LA HUASTECA, PERTENECIENTE AL MUNICIPIO DEL CENTRO EN TABASCO, MÉXICO. ....	367
<b>SECCIÓN III. ARTRÓPODOS .....</b>	<b>370</b>
EFFECTIVIDAD DE LOS ACARICIDAS CONTRA <i>Amblyomma mixtum</i> EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE BOVINOS DE DOBLE PROPÓSITO NATURALMENTE INFESTADOS EN VERACRUZ, MÉXICO. ....	370
GEOREFERENCIACIÓN DE LA GARRAPATA <i>Rhipicephalus microplus</i> DE BOVINOS EN EL ESTADO DE SINALOA.....	374
TIPIFICACIÓN FUNCIONAL PROTEÓMICA DE LA MEMBRANA INTESTINAL DE <i>Amblyomma mixtum</i> .....	379
EFFECTO ACARICIDA <i>in vitro</i> E <i>in vivo</i> DE HONGOS <i>Metarhizium anisopliae</i> NATIVOS DE SUELOS GANADEROS CONTRA <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	384



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE IXODICIDAS SOBRE <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> EN GANADO BOVINO DEL MUNICIPIO DE GENERAL BRAVO, NUEVO LEÓN.....	385
EFFECTO DE LA INFECCIÓN DE <i>Babesia bigemina</i> EN EL PESO Y NÚMERO DE GARRAPATAS <i>Rhipicephalus microplus</i> RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A IVERMECTINA. ....	389
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> Y <i>Rhipicephalus microplus</i> EN CÁNIDOS DE NUEVO LEÓN, MÉXICO. ....	394
IMPORTANCIA DE LA MOVILIZACION DEL GANADO DE ZONAS ENDEMICAS A ZONAS LIBRES DE GARRAPATAS .....	395
HALLAZGO E IDENTIFICACION TAXONOMICA DE <i>Haemaphysalis longicornis</i> EN UN EQUINO DE IMPORTACIÓN PROCEDENTE DE TEXAS, EUA, RECHAZADO PARA SU INGRESO A MEXICO. ....	400
CARACTERIZACIÓN DE UN POLIPEPTIDO DERIVADO DE LA PROTEÍNA RmS17 DE LA GARRAPATA <i>Rhipicephalus microplus</i> EN UNA CEPA MEXICANA.....	405
ALGORITMO BASADO EN EL USO DE PROTEOMICA Y ONTOLOGÍA PARA IDENTIFICACIÓN DE ANTIGENOS CANDIDATOS A VACUNAS ANTIGARRAPATAS .....	410
EVALUACIÓN <i>in vitro</i> DEL EFECTO IXODICIDA DE EXTRACTOS VEGETALES DE CANELA, AJO Y TAGETES SOBRE MORTALIDAD DE GARRAPATAS <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> . ....	414
INFLUENCIA DEL CALOSTRO EN BECERROS NACIDOS EN UNA REGIÓN ENDÉMICA DE <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	415
IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE GARRAPATA QUE INFESTAN AL VENADO COLA BLANCA ( <i>Odocoileus virginianus</i> ) EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS .....	416
POLIMORFISMOS EN EL GEN DEL CANAL DE CLORO EN GARRAPATAS <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> RESISTENTE A IVERMECTINA.....	417
EFFECTO SUB-LETAL DE MOXIDECTINA SOBRE EL ESCARABAJO ESTERCOLERO <i>Onthophagus landolti</i> HAROLD ( <i>Coleoptera: Scarabaeinae</i> ) .....	421
PRESENCIA DE MOSCAS HEMATOFAGAS Y SU RELACIÓN CON COMPORTAMIENTOS DEFENSIVOS EN VACAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA .....	422
<i>Dermatobia hominis</i> EN BOVINOS DE ZONA TZELTAL DE CHIAPAS. ....	423
EVALUACIÓN BIOLOGICA DE LA COMBINACIÓN FLUAZURON + ABAMECTINA PARA EL CONTROL DE <i>Haematobia irritans</i> L. ( <i>Diptera: Muscidae</i> ) SOBRE GANADO NATURALMENTE INFESTADO.....	424
PREVALENCIA DE PULGAS EN CORDEROS CRIADOS EN EL TRÓPICO MEXICANO. ....	429
HALLAZGO DE <i>Echidnophaga gallinacea</i> EN AVES DOMESTICAS ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) EN UNA GRANJA DE PRODUCCIÓN. ....	430
<b>SECCIÓN IV: OTRAS PARASITOSIS .....</b>	<b>431</b>
PREVALENCIA DE PARÁSITOS EN GATOS FERALES EN LA CIUDAD DE MÉXICO .....	431



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

ANÁLISIS PRELIMINAR DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN AVES EN CAUTIVERIO EN UMA “EL APOMITO” EN CULIACÁN, SINALOA .....	432
DETERMINACIÓN DE <i>Mycoplasma haemocanis</i> EN SANGRE DE CANINOS DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO .....	437
SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Toxoplasma gondii</i> , EN REBAÑOS OVINOS DE JALISCO, MÉXICO.....	442
IDENTIFICACIÓN DE <i>Contracaecum multipapillatum</i> (Nematoda: Anisakidae) EN PELÍCANOS PARDOS ( <i>Pelecanus occidentalis californicus</i> ): REPORTE DE UN CASO CLÍNICO REMITIDO AL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO .....	443
<i>Ehrlichia canis</i> EN PERROS DE YUCATÁN MÉXICO: PREVALENCIA, INCIDENCIA, CO-INFECCIÓN CON <i>Rickettsia parkeri</i> Y FACTORES ASOCIADOS.....	444
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ENDOPARÁSITOS DE LA BALLENA AZUL DE VIDA LIBRE EN EL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA.....	445
PP2C COMO UN MARCADOR EN EL DESARROLLO DE LA LEISHMANIASIS MURINA: UN ENFOQUE PATOLÓGICO.....	446
<i>Trypanosoma</i> spp. EN HEMOLINFA DE GARRAPATAS <i>Rhipicephalus microplus</i> (RESISTENTES A IXODICIDAS) COLECTADAS DE GANADO BOVINO DE UN RANCHO EN TAMAULIPAS, MÉXICO .....	447
EVALUACION <i>in vitro</i> DE NUEVOS DERIVADOS DE 1-4 AMINO NAFTOQUINONAS EN EPIMASTIGOTE DE <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	448
EVALUACIÓN <i>in vitro</i> DE LA ACTIVIDAD TRIPANOSOMICIDA DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS SOBRE CEPAS MEXICANAS Y SUDAMERICANAS DE <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	449
FRECUENCIA DE PARÁSITOS ZONÓTICOS EN PERROS DE UN ALBERGUE EN LA CIUDAD DE MÉXICO .....	450



# XI CONGRESSO NACIONAL DE PARASITOLOGIA VETERINARIA

## CONFERENCIAS MAGISTRALES

### CONTROLE DE NEMATÓIDES EM RUMINANTES COM EXTRATO DE FUNGOS, EXTRATOS DE PLANTAS E MICONANOTECNOLOGIA

Professor Fabio Ribeiro Braga  
PhD - Parasitologia Veterinária  
Apresentação

A criação de ruminantes está presente em praticamente todos os continentes. A ampla difusão da espécie ovinos, caprinos e bovinos se deve principalmente ao seu poder de adaptação aos diferentes climas, relevos e vegetações. Contudo, entre os fatores que interferem no desenvolvimento pleno desta atividade, o parasitismo gastrointestinal se destaca. Diversos programas de controle, principalmente os químicos, vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de minimizar os efeitos adversos desse parasitismo na produção extensiva de caprinos, no entanto a utilização de fungos nematófagos aponta para um novo cenário sustentável.

Dessa forma, existe uma enorme demanda mundial na construção de um desenvolvimento sustentável, ou seja, um desenvolvimento que satisfaça as necessidades do presente sem comprometer a capacidade das futuras gerações poderem satisfazer suas próprias necessidades. Dessa maneira, o novo conceito de desenvolvimento reforça a necessidade da adequação dos atuais sistemas em uma agricultura sustentável, principalmente com uma baixa dependência de insumos comerciais e bases químicas.

Tratando-se de um problema pontual como as verminoses em ruminantes, alternativas sustentáveis e salutar de controle merecem destaque. Destacam-se dentre estas medidas: o controle biológico (fungos nematófagos – produção em massa de fungos; extratos brutos enzimáticos; nanopartículas) e extratos vegetais. Contudo, a exploração de trabalhos que visem a constante aplicabilidade destas alternativas merece cada vez mais incentivo.

O controle biológico pode ser definido como um mecanismo pelo qual se utilizam de antagonistas naturais, disponíveis no ambiente, para controlar ou diminuir a um limiar aceitável uma população de organismos considerados nocivos ou indesejados, tanto na pecuária quanto na agricultura.

#### **“Um velho inimigo” – nematoide parasito gastrointestinal**

Devido a facilidade de percepção, as ectoparasitoses chamam mais a atenção dos produtores do que as helmintoses gastrointestinais. Por outro lado, parasitos gastrointestinais acometem os ruminantes durante toda a vida, sendo os seus efeitos mais evidentes em animais jovens, pois estes ainda não desenvolveram resistência imunológica.

Estes parasitos são frequentes em todos os sistemas de criação de ruminantes sendo responsável por perdas econômicas decorrentes da debilidade do animal parasitado como anemia e hipoproteïnemia, anorexia e perda de peso, redução na produção de carne e leite e em alguns casos até a morte devido à carga parasitária, além de altos custos com medidas de controle.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Assim as nematodioses gastrintestinais comprometem a saúde dos rebanhos de ruminantes em todo o mundo. Dessa forma se reconhece o problema das verminoses, contudo, o controle realizado com drogas antiparasitárias não tem sido uma medida eficaz, uma vez que a resistência parasitaria às bases comerciais disponíveis já é uma realidade. Os produtores rurais reconhecem o problema das verminoses apenas quando os animais estão clinicamente afetados e, os sinais como anorexia, edema submandibular, baixa conversão e dentre outros prejuízos diretos são observados. Nesse momento a dose salvadora de antihelmintico é feita, porém sem o menor conhecimento do “inimigo” em que estamos lidando – nematoide parasito gastrintestinal.

Dentre os nematoides parasitos gastrintestinais, os estrongilideos de ruminantes têm destaque. Os principais genros são *Haemonchus*, *Teladorsagia*, *Trichostrongylus*, *Mecistocirrus digitatus*, *Nematodirus spp.* *Cooperia*, *Bunostomum*, *Chabertia* e *Oesophagostomum* são os mais prevalentes e geram perdas econômicas mundiais graves.

Os parasitos citados acima possuem duas fases: parasitária e ambiental. Seu ciclo biológico básico se inicia com a liberação dos ovos nas fezes em estágio de mórula. O primeiro estágio larval (L1) se desenvolve e eclode em alguns dias e se alimenta de microrganismos presentes nas fezes. Após a primeira muda surge o segundo estágio larval conhecida como L<sub>2</sub> e que também se alimenta de microrganismos. A segunda muda dá origem as larvas de terceiro estágio ou L<sub>3</sub>, que são infectantes. Este último estágio larval de vida livre permanece envolvido por uma cutícula até ser ingerido por um ovino juntamente com o alimento. A L<sub>3</sub> tem alta motilidade e é capaz de migrar até as partes mais altas da pastagem facilitando a ingestão pelo hospedeiro.

Estes parasitos são, além de inimigos da saúde animal, verdadeiros sócios, que não aceitam quebrar a sociedade com o produtor rural. Encarecem os custos com tratamentos, perdas na produção de carcaças e baixo desenvolvimento dos animais.

O ciclo biológico dos nematoides gastrintestinais é direto, sem migração corporal e pode ser dividido em fase parasitária e fase de vida livre. As fêmeas dos parasitos realizam diariamente a postura de centenas de ovos que atingem o meio ambiente junto com as fezes. No bolo fecal, na presença de umidade (75 a 85% quando eliminado), aeração e temperatura adequada (20°C a 30°C) em um período de 24 a 48 horas ocorre a eclosão dos ovos liberando larvas de primeiro estágio (L1), que posteriormente se desenvolve em larva de segundo estágio (L2). Essas formas larvais habitam obrigatoriamente o bolo fecal, onde obtêm as condições necessárias à sobrevivência, temperatura, umidade e oxigênio. Alimentam-se de microrganismos (fungos e bactérias); posteriormente transformam-se em larvas de terceiro estágio (L3), infectantes.

As L3 possuem maior capacidade de resistência às condições ambientais, pois retém a cutícula da fase L2, apresentando assim dupla cutícula. Sob circunstâncias ideais, o desenvolvimento do ovo à L3 pode acontecer dentro de até uma semana. As larvas L3 não se alimentam, sobrevivem de reservas armazenadas durante as fases de L1 e L2. Com o ressecamento do bolo fecal, as larvas são forçadas a deixa-lo e migram para a pastagem próxima a ele, podendo migrar até 40 cm do bolo fecal. Nas pastagens, podem movimentar-se na posição horizontal e vertical, onde nos momentos de temperaturas mais amenas alcançam a ponta das folhas que compõem a vegetação, podendo ser ingerido pelo hospedeiro dando continuidade ao ciclo.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

As estratégias destes agentes nocivos à saúde do rebanho são muitas e podem variar de acordo com os fatores que são intrínsecos a cada animal. Todavia, os fatores ambientais podem na maioria das vezes ser o principal desencadeador de um problema maior e crônico nas propriedades.

Em suma, a problemática das verminoses é uma constante em todas as regiões do mundo e merecem estudos que visem o equilíbrio entre as partes envolvidas, o animal versus o ambiente. O controle químico, por meio da utilização de produtos anti-helmínticos corresponde a estratégia mais utilizada pelos produtores de todo o mundo. Esse modelo de controle tem ação sobre as formas parasitárias dos nematoides e nenhum sobre as formas de vida livre, o que não diminui as recidivas infecções, de modo que em longo prazo favorece a seleção de cepas de nematoides resistentes aos produtos existentes.

### **Serviços médicos veterinários – Conhecimento aplicado**

Em relação aos serviços médicos veterinários especializados, a atenção é somente voltada para os nematoides parasitos gastrintestinais, que na maioria das vezes pelo seu hábito da hematofagia compromete toda a fisiologia animal.

Como citado anteriormente as bases químicas antiparasitárias já foram selecionadas por estes agentes e dessa maneira deve-se encontrar alternativas de que possam ser sinérgicas ao controle químico e com isso se obter sucesso.

O controle destas infecções, visto que causam grande prejuízo econômico, baseia-se no emprego de anti-helmínticos. A vasta utilização destes compostos químicos é justificada pela sua facilidade de aplicação, preços baixos, eficácia contra todos os estágios de parasitas presentes no hospedeiro e a toxicidade ao hospedeiro.

Os principais grupos de anti-helmínticos utilizados de forma terapêutica e profilática são: piperazinas, imidazotiazóis e tetraidropirimidinas, benzimidazóis e pró-benzimidazóis, avemectinas e milbemicinas, organofosforados e salicilanilidas e fenóis substituídos.

Entretanto a constante utilização destes compostos promoveu um processo de seleção na população de parasitos promovendo o crescimento de uma população de parasitos resistentes aos antiparasitários.

A resistência parasitaria é um fenômeno pelo qual um fármaco não consegue manter a mesma eficácia contra os parasitos, se utilizado nas mesmas condições, depois de determinado período de tempo. Assim, a resistência aos anti-helmínticos é hereditária e a administração repetida selecionará, portanto, uma proporção cada vez maior de indivíduos resistentes. Isso acontece, pois, o parasito adquire a capacidade de mudar a metabolização do fármaco e/ou mutar o local de ligação do fármaco.

### **Controle biológico com fungos nematófagos (conídios; clamidósporos; extrato bruto enzimático e nanopartículas) - “velhos amigos, nova esperança”.**

Por décadas, a utilização de organismos antagonistas presentes no ambiente, como fungos nematófagos têm sido utilizados e com sucesso no combate as formas pre-parasitárias.





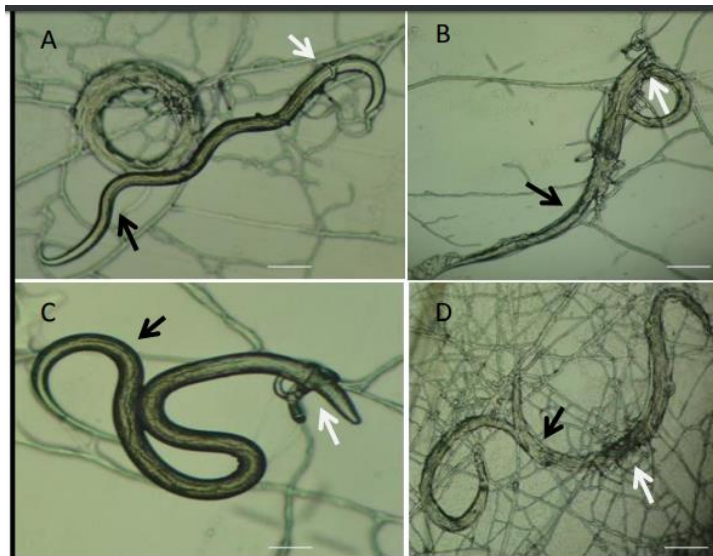
## XI CONGRESSO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Praticamente em todos os continentes a atuação de fungos nematófagos dos gêneros *Duddingtonia*, *Monacrosporium* e *Arthobotrys* se destacam em trabalhos acadêmicos e com premissas a compor um produto comercial efetivo.

Fungos nematófagos são cosmopolitas, ocorrendo em forma saprófita em solos naturais ou agricultáveis e em todo tipo de matéria orgânica em decomposição. A atividade predadora destes fungos se dá mediante a presença de ovos e larvas de helmintos. Sabe-se que quanto maior o número de nematoides no ambiente, maior será a proliferação de hifas e formação de estruturas de captura produzidas por esses fungos.

As pesquisas avançaram e não apenas a produção de estruturas fúngicas (clamidósporos e conídios) têm sido utilizadas em ensaios experimentais e com vertentes na utilização da rotina da criação de ruminantes. O sucesso do controle biológico a campo se deu a partir da incorporação dos fungos em péletes de matriz de alginato de sódio (clamidósporos e conídios), tal incorporação promoveu vantagens que viabilizaram pesquisas em condições ambientais. Dentre as vantagens podemos citar: garante proteção aos isolados fúngicos durante a passagem pelo trato gastrointestinal dos animais, podem ser mantidos por longos períodos de tempo em baixas temperaturas, além de ter baixo custo de produção.

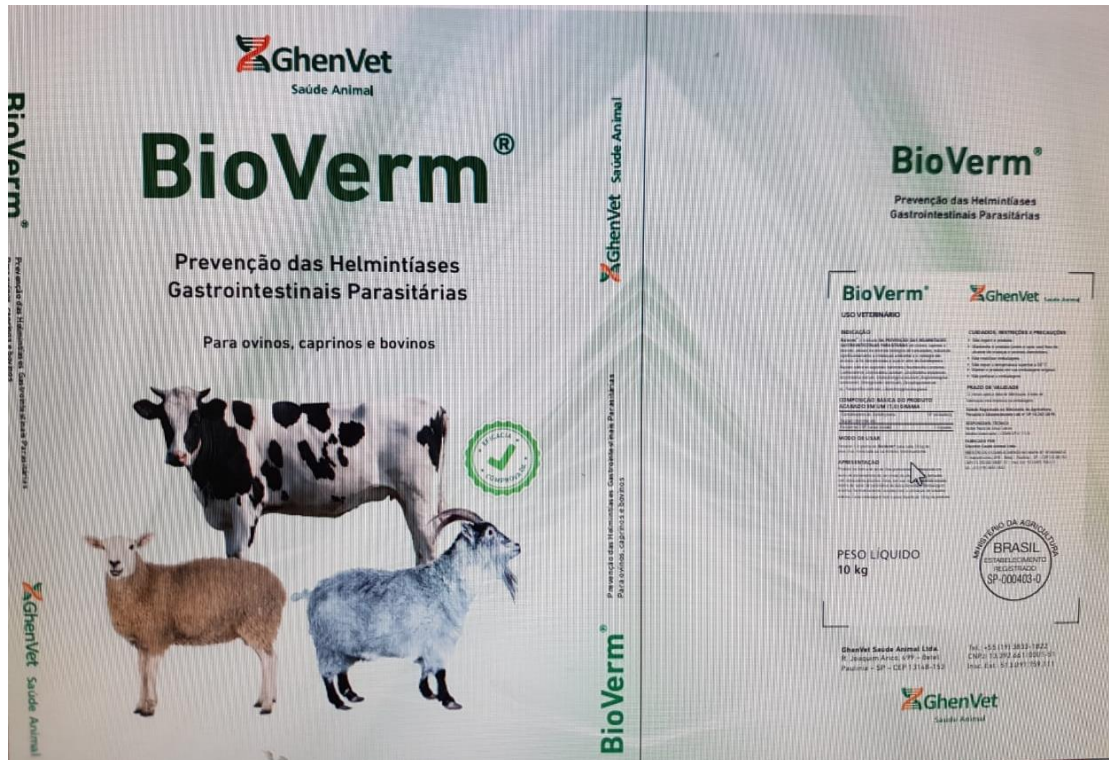
A utilização de fungos nematófagos como possíveis controladores biológicos de nematoides de animais foi o primeiro “passo” como um modelo experimental, que a partir nas últimas décadas sendo testado também sobre. Contudo, um grande obstáculo à administração destes organismos seria qual a melhor forma e qual a melhor dose a ser administrada aos animais. Partindo-se dessa premissa é que se realiza o controle biológico clássico, ou seja, do tipo a inundar o ambiente (**Figura 1**).



Atualmente no Brasil, a amostra *D.flagrans* Bioverm® foi liberada pelo Ministério da Agricultura Abastecimento e Pecuária para ser comercializada no controle de nematoides parasitos de caprinos, ovinos e bovinos no Brasil. (**Figura abaixo**)



# XI CONGRESSO NACIONAL DE PARASITOLOGIA VETERINARIA



## Nanopartículas de fungos nematófagos - aplicação nova

Em recente descoberta no Brasil, o grupo de pesquisa do professor Fabio Ribeiro Braga na Universidade Vila Velha, conseguiu produzir uma nanopartículas derivada do fungo *Duddingtonia flagrans* (AC001). Na atual situação, essas nanopartículas apresentaram-se como um produto mais refinado e que poderá ser utilizado no controle de larvas infectantes de nematoides e bem como no futuro compor um antihelmintico incorporado com nanopartículas. As pesquisas com nanotecnologia tem sido o enfoque de muitos trabalhos na área medica humana e veterinária, contudo, o trabalho pioneiro com produção de nanotecnologia a partir de um fungo nematófago é “exponencialmente olímpico” no sentido mais amplo do controle efetivo.

A micosíntese de nanopartículas de metal, ou miconanotecnologia (MNT) é o uso de fungos na NT para a síntese das NPs. A capacidade de fungos filamentosos de crescer em substratos pobres em nutrientes e de baixo custo, bem como a sua capacidade de produzir uma grande variedade de metabolitos comercialmente proveitosos, têm atraído um interesse considerável para a utilização destes micro-organismos na produção de NPs. Além disso, para a síntese em grande escala de nanopartículas em biorreatores, fungos filamentosos são os melhores agentes para a produção de biomassa, em comparação com as algas e bactérias, uma vez que o micélio fúngico pode suportar a pressão de fluxo, agitação, e outras condições nestes equipamentos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Pesquisas envolvendo nanopartículas são atualmente uma área biotecnológica de intensa investigação científica. Nos últimos 20 anos, de acordo com o banco de dados do PubMed, mais de 6.000 artigos foram publicados. Esse fato se deve a uma grande variedade de aplicações em diversos campos da ciência, como: eletrônica, ciências ambientais, biotecnologia, engenharia, biomedicina e agricultura. Em níveis gerais de conhecimento, um nanômetro (nm) é um milionésimo de um milímetro (mm). A palavra "nano" indica um bilionésimo de 1 metro ou  $10^{-9}$ .

A produção, manipulação e aplicação de partículas de nano-escala, geralmente varia de 1 a 100 nanômetros (nm). Como consequência das suas dimensões, as nanopartículas exibem propriedades óticas e eletrônicas ideais para engenharia na fabricação de nanoestruturas, visto que também podem ser facilmente sintetizadas a partir de diversas matérias-primas.

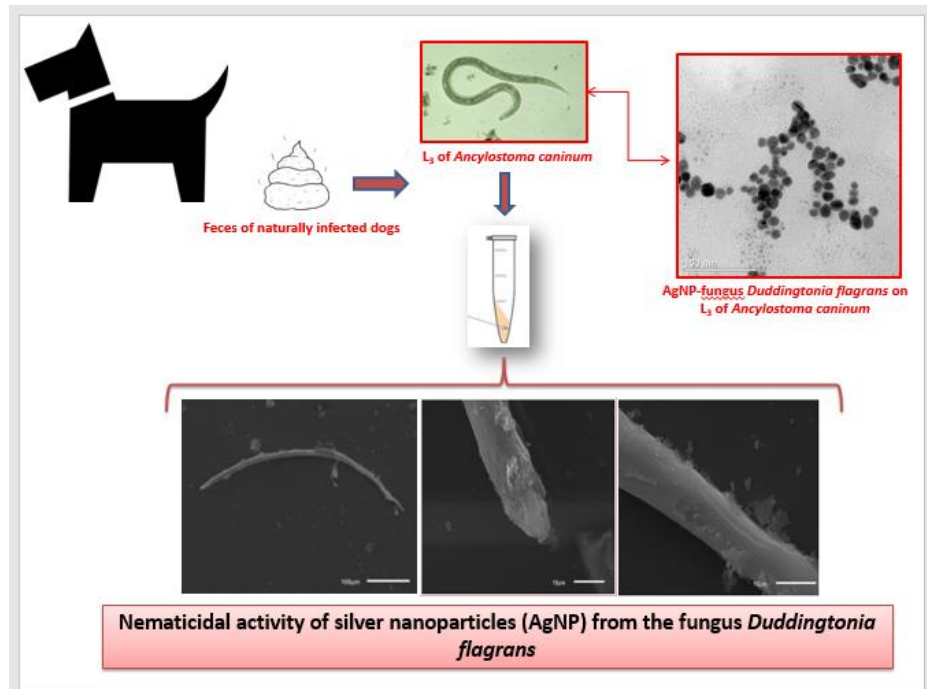
De um modo geral, as nanopartículas de metal podem ser sintetizadas e estabilizadas por meio de métodos físicos e químicos. De acordo com Shipway et al. (2000) a preparação mais simples e comumente utilizada para a formação das nanopartículas de metal é uma reação aquosa de redução, em que o citrato de sódio, sob refluxo, é utilizado como agente redutor. Entretanto, vários produtos e subprodutos químicos, prejudiciais à saúde, como amônia, aerossol metálico e irradiação, são produzidos durante estes processos e síntese química. Além disso, estes processos são caros, demorados e, normalmente feitos em laboratórios em pequena escala, o que torna este tipo de método menos adequado para produção em larga escala.

A produção ideal de nanopartículas envolve uma síntese de custo eficaz, não tóxico e ambientalmente inofensivo. Sendo assim, abordagens não tóxicas, "ecofriendly" para a biossíntese de nanomateriais e nanoestruturas apresentam-se como métodos promissores para atender estas necessidades. A nanotecnologia verde utiliza micro-organismos, como: bactérias, leveduras e fungos nematófagos, para a síntese de nanopartículas de metais. Estes micro-organismos apresentam características importantes para a síntese destas partículas; são capazes de agregar material inorgânico dentro ou fora da célula, além de produzirem bio-extratos, que atuam como agente redutor de material inorgânico e agente de proteção na síntese das nanopartículas de ouro, prata, platina, selênio, sílica e zircônio.

Recentemente nanopartículas de *D. flagrans* foram produzidas com sucesso e atuaram sobre larvas de geohelmintos de cães. Esse trabalho abre novas portas para a utilização dessas nanopartículas sobre nematoides parasitos gastrintestinais de ruminantes domésticos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



### Extrato bruto de fungos nematófagos (quitinases, proteases e lipases)

A utilização de extrato fúngico contendo enzimas extracelulares derivadas de fungos nematófagos tem se destacado e as pesquisas apontam para uma nova utilização no controle biológico.

Fungos nematófagos produzem enzimas como quitinases, proteases e lipases contidas em seu extrato bruto. As quitinases atuam principalmente sobre os ovos dos nematoides, que têm por principal característica um espesso revestimento de quitina, um polissacarídeo estrutural que confere resistência e impermeabilidade. Já as proteases extracelulares e colagenases atuam diretamente sobre as cutículas dos juvenis, degradando-as por meio de hidrólise enzimática, e por consequência, causando mortalidade.

Alguns trabalhos que envolvem a produção e a ação nematicida de quitinases produzidas por fungos nematófagos foram realizados recentemente pelo grupo do professor Fabio Ribeiro Braga. Quitinases do fungo nematófago *Monacrosporium thaumasium* demonstraram atividade nematicida sobre larvas de *Panagrellus redivivus*, *M. thaumasium*, *M. sinense* também produzem quitinases quando induzidos devidamente por meio de cultura rico em quitina.

A casca de ovo de nematoides contém fibrilas de quitina embebidas numa matriz de proteína, sendo o complexo de quitina provavelmente a principal barreira contra a infecção fúngica. No entanto, pouco ainda se sabe sobre outras quitinases de fungos nematófagos. A ação patogênica desses fungos contra nematoides ainda precisa de maiores estudos para a sua elucidação.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Os microrganismos como fungos, leveduras e bactérias são grandes produtores de diversas enzimas como amilases, celulasas, proteases e quitinases. As enzimas são catalisadores orgânicos produzidos por células vivas, que participam das reações químicas nos processos vitais. Estas moléculas são capazes de atuar nas principais macromoléculas biológicas, como proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos.

Proteases são enzimas que catalisam reações hidrolíticas de proteínas produzindo peptídeos e aminoácidos. Estas enzimas compõem um extenso grupo, os quais diferem em propriedades, tais como especificidade de substrato, sítio ativo, mecanismo catalítico, pH, temperatura e perfil de estabilidade. Segundo a Comissão de Enzimas da União Internacional de Bioquímica as proteases pertencem ao grupo 3 (hidrolases), e sub-grupo 4 (que hidrolisa ligação peptídica). São classificadas de acordo com a posição da ligação peptídica a ser clivada e quanto a faixa de pH de máxima atividade: ácidas (pH 2-6) e alcalinas (pH 8-13).

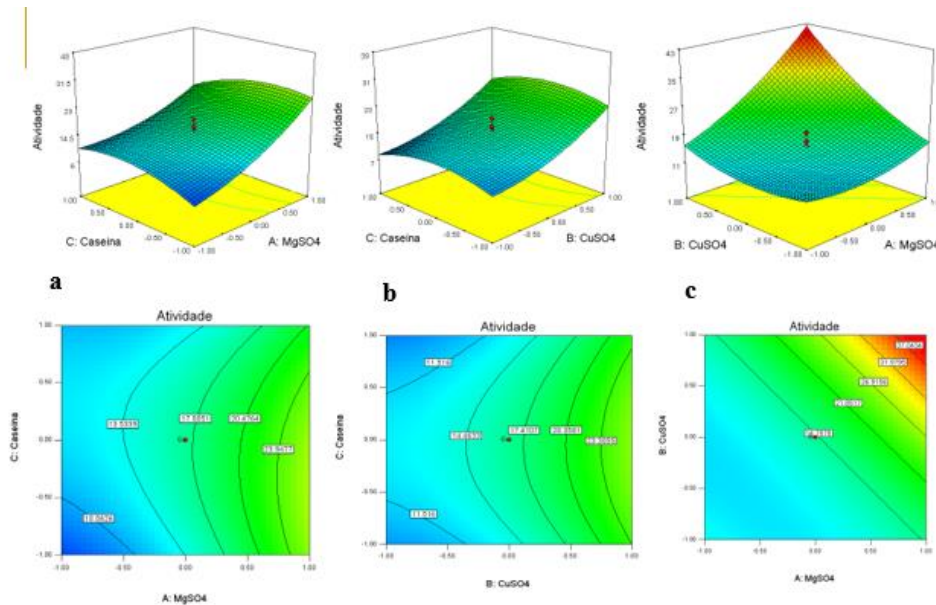
Proteases apresentam um extenso campo que podem ser aplicadas. Na indústria são utilizadas para fabricação de detergentes, processamento de couros, indústria de laticínios, principalmente na produção de queijos, indústria farmacêutica, entre outras, correspondendo a aproximadamente 60% do mercado de enzimas.

As quitinases são as glicosil hidrolases que hidrolisam ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas entre o N-acetil-D-glicosamina e resíduos de quitina. As quitinases têm sido detectadas em uma grande variedade de microrganismos. Estas enzimas podem ser classificadas como: endo-quitinases (EC 3.2.1.14), exo-quitinases e  $\beta$ -(1,4)-N-acetil-glicosaminidases (EC 3.2.1.30).

A literatura destaca que a produção de proteases de *D. flgrans* pode ser potencializada por meio da incorporação de alguns substratos no meio de cultura (Figura 3). Por meio de metodologias como Curva de Superfície de Resposta é capaz de se obter uma maior produção das proteases.



# XI CONGRESSO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



**Figura 1** - Curva de superfície de resposta (RSM) e mapa de contorno da produção de protease pelo fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* (AC001) demonstrando a interação entre as variáveis MgSO4 e caseína (a); CuSO4 e a caseína (b); MgSO4 e CuSO4 (c).

## Extratos vegetais

A literatura é rica em trabalhos que relatam a atuação de agentes fitoterápicos no controle de L<sub>3</sub> de strongilídeos, no entanto, a descoberta de substâncias que possam atuar diretamente no controle efetivo ainda merece mais pesquisas.

Dessa maneira cita-se a etnoveterinária, proporcionando a investigação e aplicação prática do conhecimento popular, a respeito de possíveis plantas com atividade anti-helmíntica. Ensaios laboratoriais e a campo demonstram que a utilização de extratos vegetais ricos em metabolitos secundários detém boa atividade anti-helmíntica.

A ausência de um tratamento antiparasitário alopático totalmente eficiente frente a nematodioses gastrintestinais maximiza a demanda pelo desenvolvimento de novos medicamentos capazes de apresentarem eficaz e destaca a busca por tratamentos, dentro os quais o uso de fitoterápicos que possam ser aplicados à parasitologia veterinária, já que muitas plantas são tradicionalmente conhecidas como possuidoras de atividade anti-helmíntica e, em paralelo, são passíveis de causar menos impactos ambientais e de induzir resistência nos parasitos.

## Controle de nematoides parasitos de ruminantes: “Olhando para o futuro”

O controle biológico eficaz de nematoides parasitos de ruminantes, parece cada vez mais perto, isso é uma visão no futuro próximo. As forças estão voltadas para o melhor conhecimento da epidemiologia parasitária e não somente na utilização de compostos químicos e isso já é de longe uma boa premissa.



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

Frente as novas tecnologias, “os velhos amigos” - fungos nematófagos, e a fitoterapia anti-helmíntica ganharam mais forças. Esse fato se deve aos inúmeros trabalhos de pesquisadores em todo o mundo realizado e dessa maneira cada vez mais se tornam uma realidade para o produtor rural.

Em qualquer parte do mundo os esforços se concentram em determinar o grau de parasitismo e qual é o tipo de problema enfrentado. Quer seja na resistência parasitária quer seja no ambiente contaminado.

Associado aos velhos amigos o conhecimento popular a respeito da atividade nematicida de algumas plantas e bem como de pesquisas sérias com esse enfoque tem cada vez mais ganhado espaço. A realidade futura já conta hoje com novos projetos em controle sustentável e atualmente o mundo “vive” uma euforia de sustentabilidade que veio para se consolidar de vez. O Bioverm no Brasil já é uma realidade.

No passado, décadas de 1900 a 1980, as bases químicas ganharam espaço, mas devido a imprudência na sua utilização, o “preço” alto foi cobrado.

Nunca antes produzimos tantos alimentos e proteína animal de qualidade, mas a que preço?

Se por um lado temos países com rebanhos de ruminantes com números elevados, a carga parasitaria alta nestes animais e no ambiente também são uma realidade.

Dessa forma, associar pesquisa e sociedade em comum, deve ser uma premissa do ponto de vista científico e sustentável. O pequeno produtor rural necessita de tecnologias que estejam em suas mãos e não somente resultados científicos que por ventura sejam engavetados. Outro ponto importante é o conhecimento da epidemiologia parasitária, entender quais fatores interferem na dinâmica das populações de nematoides parasitos é de extrema importância.

Por fim, realizar eventos científicos que consigam explorar a capacidade técnica, intelectual e pluralizar o contato entre os cientistas pode no futuro trazer um grande contingenciamento de novos resultados diretos para a sociedade daquele país.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ECOLOGIA DE PARASITOS DE PECES FISH PARASITE ECOLOGY

Rubio GM\*, García VA y Pinacho PCD.

Instituto de Ecología, A.C. (INECOL)  
miguel.rubio@inecol.mx

Palabras clave: Monogenea; *Gyrodactylus*; acuacultura

Los monogéneos parásitos del género *Gyrodactylus* son reconocidos como unos de los patógenos más problemáticos para la acuacultura: *Gyrodactylus salaris* está incluido en la lista de patógenos de peces notificables a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), y hay distintas especies del mismo género que afectan a peces de interés comercial como salmónidos y tilapias – pero su identificación taxonómica es complicada (1). Los autores de este trabajo hemos caracterizado especímenes de *Gyrodactylus* colectados de granjas de tilapia en los estados de Yucatán, Tabasco, Chiapas, Veracruz, Puebla, Jalisco, Sinaloa y Sonora – lo cual representa adecuadamente la producción de tilapia en el territorio nacional. Los parásitos se procesaron individualmente y para cada uno de ellos obtuvimos información morfométrica y las secuencias de la región de los espaciadores internos de transcripción de los genes ribosomales (ITS1, gen ribosomal 5.8S e ITS2). Determinamos que la especie de parásito de tilapia más ampliamente distribuida en el país es *Gyrodactylus cichlidarum*, un patógeno reconocido a nivel mundial por ocasionar mortalidad de peces cíclidos cultivados (2); en el sureste del país encontramos también *Gyrodactylus yacatlí* (probablemente un parásito adquirido de peces cíclidos nativos) y una especie nueva que describiremos en breve.

Además de las colectas hechas en granjas piscícolas, en la mayoría de las localidades muestreadas, se obtuvieron peces silvestres de los que colectamos *Gyrodactylus*. El estudio de los parásitos de peces silvestres se emprendió con un fin doble: por un lado, para contribuir al conocimiento de la biodiversidad del país, particularmente sobre el grupo taxonómico de helmintos parásitos de peces menos conocido, el de los monogéneos; por el otro, para evaluar si ha habido intercambio de parásitos entre los peces cultivados y los silvestres que habitan los cuerpos de agua que surten a las piscifactorías, y que por lo mismo pueden fungir como fuentes o vectores de patógenos en la acuacultura. A la fecha, el estudio de los peces silvestres permitió describir ocho nuevas especies de *Gyrodactylus* que infectan peces pecílidos (3), dos especies nuevas de peces carácidos (4), cuatro especies nuevas que infectan peces goodeidos (5,6) y dos de peces profundúlidos (7). Estudiar los parásitos de peces silvestres en el entorno de las piscifactorías permitió lo que quizás sea el logro más importante del proyecto (8): determinar que los peces pecílidos, que son nativos en el sureste del país, pero son especies invasivas ampliamente distribuidas en el centro y norte de México, son portadores de *G. cichlidarum*, el parásito más abundante de las tilapias – peces cíclidos que no están emparentados con los pecílidos.

El hecho de que *G. cichlidarum* pueda infectar distintas variedades de peces cíclidos (2) y también peces pecílidos, que son filogenéticamente muy lejanos de los cíclidos, indica que este patógeno





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

tiene baja especificidad hospedatoria – por lo cual también es relevante determinar si infecta a otras familias de peces nativos. Es también importante determinar si los pecílidos fungen como acarreadores eficientes del patógeno entre distintas piscifactorías/cuencas. Es relevante determinar ésto, pues hay pecílidos invasivos en todo el mundo y la tilapia es el segundo producto dulceacuícola más importante a nivel global (9). Además, es conocido que los monogéneos son los patógenos más abundantes y problemáticos en la acuicultura latinoamericana y que ocasionan grandes pérdidas económicas (10), por lo que evaluar metódicamente su distribución y abundancia es de relevancia científica y práctica.

### Referencias bibliográficas

- Bakke TA, et al. 2007. The biology of gyrodactylid monogeneans: the “Russian-doll killers”. *Adv Parasitol* 64: 161.
- García-Vásquez A, et al. 2010. Gyrodactylids (Gyrodactylidae, Monogenea) infecting *Oreochromis niloticus niloticus* (L.) and *Oreochromis mossambicus* (Peters) (Cichlidae): A pan-global survey. *Acta Parasitol* 55: 215.
- García-Vásquez A, et al. 2015. Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. *Parasitol Res* 114: 3337.
- Razo-Mendivil U, et al. 2016. Spot the difference: Two cryptic species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) infecting *Astyanax aeneus* (Actinopterygii, Characidae) in Mexico. *Parasitol Int* 65: 389.
- Rubio-Godoy M, et al. 2016. To each his own: no evidence of gyrodactylid parasite host switches from invasive poeciliid fishes to *Goodea atripinnis* Jordan (Cyprinodontiformes: Goodeidae), the most dominant endemic freshwater goodeid fish in the Mexican Highlands. *Parasit Vectors* 9: 604.
- García-Vásquez A, et al. 2018. Three new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 described from *Goodea atripinnis* (Pisces: Goodeidae), an endemic freshwater fish from the Central Highlands of Mexico. *Parasitol Res* 117: 139.
- García-Vásquez A, et al. 2018. Two new species of *Gyrodactylus*, von Nordmann, 1832 from *Profundulus oaxacae* (Pisces: Profundulidae) from Oaxaca, Mexico, studied by morphology and molecular analyses. *Parasitol Int* 67: 517.
- García-Vásquez A., et al. 2017. Triple trouble? Invasive poeciliid fishes carry the tilapia pathogen *Gyrodactylus cichlidarum* (Paperna, 1968) in the Mexican highlands. *Vet Parasitol* 235: 37.
- FAO (2014) 2012 yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics.
- Soler-Jiménez MC, et al. 2016. Helminth parasites of finfish commercial aquaculture in Latin America. *J Helminthol* 91: 110.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EXPERIENCIAS EN EL USO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE DE Bm86 CONTRA LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* EN MÉXICO

Ortíz EM\*, Soberanes N.

LAPISA. Carretera La Piedad-Guadalajara km 5.5, Colonia Camelinas. C.P. 59375, La Piedad, Michoacán, México. martin.ortiz@lapisa.com

Palabras clave: Bm86, Vacuna, *Rhipicephalus microplus*

### Introducción

La garrapata *Boophilus* spp. (recientemente reclasificada en el género *Rhipicephalus* spp.) se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales del mundo con la expansión de rango para algunas especies debido a los cambios en las condiciones climáticas. Las infestaciones con *R. microplus* producen un impacto económico en la ganadería reduciendo la ganancia de peso y la producción de leche, y transmitiendo patógenos que causan Babesiosis (*Babesia bovis* y *B. bigemina*) y Anaplasmosis (*Anaplasma marginale*). *B. annulatus* está presente en regiones de Asia, América Latina y África, donde también puede afectar la producción de ganado y patógenos vectores.

Los primeros esfuerzos para controlar a las garrapatas se centraron en la rotación de productos químicos sintéticos vendidos bajo varios nombres comerciales con diferentes mecanismos de acción acaricida, como organofosforados, piretroides, amidinas, fenilpirazolonas e inhibidores del desarrollo de los insectos, como benzofenilureas, y moléculas con espectro de actividad endectoparasiticidas, como las avermectinas, para controlar las garrapatas (Bram y Gray 1983; Angus 1996). Una de las limitantes del uso de estos productos, es que tienen acción eficaz y rápida sobre las fases parasitarias que están sobre el bovino, pero una pobre acción sobre los estadios de vida libre que están en los pastos, lo que obliga a realizar tratamientos constantes y continuos con efectos adversos y colaterales, como residualidad y selección de poblaciones de garrapatas resistentes hasta hacer ineficaz su uso (Parra et al., 1999).

Hay abundante evidencia de que la vacunación con antígenos proteicos definidos puede inducir inmunidad significativa y disminuir las infestaciones de garrapatas. En mucho de los casos, ésta inmunidad se ha duplicado mediante la vacunación con antígenos recombinantes, un paso crítico en el camino hacia el éxito de estas vacunas serán los estudios de campo que demuestren, que los productos existentes pueden hacer una contribución importante a un sistema integrado para el control de las garrapatas en el campo. Sin embargo, el uso de una vacuna contra garrapatas como única herramienta, probablemente requiera mejoras en un futuro cercano para hacerlas más eficaces que las actualmente disponibles (Willadsen, et al., 1988).

Ante este panorama el control inmunológico es en una alternativa promisoriosa, pues se logra inducir una respuesta tal en los animales inmunizados que permiten mantener bajo control a estos parásitos. Esta vía tiene como perspectiva una protección de mayor duración y está exenta de problemas de índole ambiental. Varios antígenos de *R. microplus* han sido aislados como candidatos vacunales. El más conocido Bm86 (Willadsen et al. 1988; Rand et al., 1989) fue aislado y expresado a altos



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

niveles en la levadura *P. pastoris* (Rodríguez *et al.*, 1994)., fue purificado mediante un procedimiento simple y se obtuvo con un alto rendimiento y pureza, en forma glicosilada y particulada, (Canales *et al.*, 1997) formulándose una preparación con elevadas propiedades inmunogénicas y protectoras (García-García *et al.*, 1998).

Los objetivos de los presentes ensayos de campo consisten en constatar la efectividad biológica de la vacuna a base de Bm86, en bovinos naturalmente infestados con la garrapata *R. microplus*, dentro de un programa de control integrado.

### Materiales y métodos

En las tres primeras pruebas se siguió una metodología estricta, con la finalidad de llevar un seguimiento puntual de los eventos bajo la siguiente metodología. Al inicio de cada prueba con ayuda de un contador manual, se llevarán a cabo conteos de garrapatas *R. microplus* en proceso de repleción (0.4 a 0.8 cm) en 10 bovinos del hato experimental, con el objeto de determinar el nivel promedio de infestación de garrapatas. Posterior a esto todos los animales recibieron tres vacunaciones los días 1, 29 y 49 con una vacuna a base de Bm86 vía subcutánea.

### Post-vacunación

Se realizó un conteo por un costado del animal de garrapatas semirepletas (0.4 - 0.8 cm) en 10 bovinos seleccionados de los grupos experimentales los días -1, 29 y 49 posterior a las vacunaciones y se repitió los días, 36, 51, 66, 81, 96, 111, 126, 141, 156, 171 y 186 post-vacunación. En cualquiera de los conteos siempre que el umbral fue de 40 garrapatas (0.4 - 0.8 cm) por lado se realizó un baño utilizando el producto más efectivo que se tenga documentado en el rancho. El nombre del producto, la dosis y fechas de cada baño fueron documentadas en los formatos de la prueba.

Las dos pruebas restantes tuvieron un seguimiento bajo la siguiente metodología; tres vacunaciones con antígeno Bm86 en cada bovino seleccionado para la prueba los días 1, 29 y 49, posteriormente cada 6 meses. Al inicio de cada vacunación con Bm86, se estimó el grado de infestación en una tabla de seguimiento; > 10 garrapatas, de 10 a 20, de 20 a 30, de 30 a 40, de 40 a 50 y de > 50. Y luego para cada día de seguimiento durante el tiempo que duró el programa integral de control de garrapatas en cada rancho. En todos los casos en cada aplicación o día de seguimiento se documentó todo lo que se llevó a cabo, como la vacunación, baño u aplicación de algún fármaco.

La evaluación de los resultados se realizó por comparación de los promedios de garrapatas en los días de observación del seguimiento, antes y posterior a las vacunaciones y/o baños garrapaticidas, mediante análisis gráficos y comparación de los días de baño conforme avanzaba la prueba.

### Resultados

En las gráficas 1, 2 y 3 se presentan los promedios de garrapatas contabilizadas en proceso de repleción (0.4 a 0.8 cm) durante los días de observación de cada una de las pruebas. Se observa la tendencia de las curvas poblacionales de la garrapata *R. microplus* que se presentaron en cada prueba. Es importante mencionar que cada vez que el promedio contabilizado rebasaba las 30



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

hembras, el lote se bañaba con un garrapaticida de aplicación convencional, cumpliendo con esto, sobre el cuidado de la salud de los animales durante la prueba.

En la gráfica 1 podemos ver los promedios de garrapatas del lote vacunado en el rancho San Marcos, aquí el promedio de garrapatas global durante los 156 días de la prueba, fue de 29 y se realizaron cinco baños de apoyo los días 1,12, 29, 36, 50, 57 y 78. Los baños se iniciaron con Coumaphos al 2% ya que el diagnóstico de resistencia mencionaba que eran susceptibles, sin embargo, se tuvo que cambiar porque no funcionó. El promedio de garrapatas a partir del día 43 al 156, fue de 24.9, un 14 % menos que el promedio global. Es importante recalcar que desde el día 78 donde se dio el último baño no se volvió a bañar hasta el final de la prueba, teniendo un total de 78 días sin baño.

En la gráfica 2, se presentan los promedios de garrapatas durante los días de prueba en el rancho Santa Martha, como se puede observar hay 7 baños hasta el día 90, en promedio uno cada 12 días y el promedio de garrapatas (0.4 a 0.8 cm) fue de 65 garrapatas. Desde el día 90 y hasta el día 181 se obtuvo 90 días sin baño, en el día 181 se revacuno y se bañó a todos los animales, para tener 113 días más sin baño, con un promedio de garrapatas desde el día 111 hasta el final de la prueba 287 días de 25 garrapatas; muy por debajo del umbral de 30 que habíamos establecido para el baño.

En la gráfica 3 podemos ver los promedios de garrapatas durante las 59 semanas de la prueba, en el rancho Alexis, se observa que a partir de la semana 15 con un promedio de 50.5 garrapatas hay una disminución gradual que fue de 7.63 en la semana 21 y un promedio global de 26.32 garrapatas en la semana 59. Es importante también notar que desde el día 106 hasta el día 186 de la prueba no se bañó, obteniendo 80 días sin bañar animales.

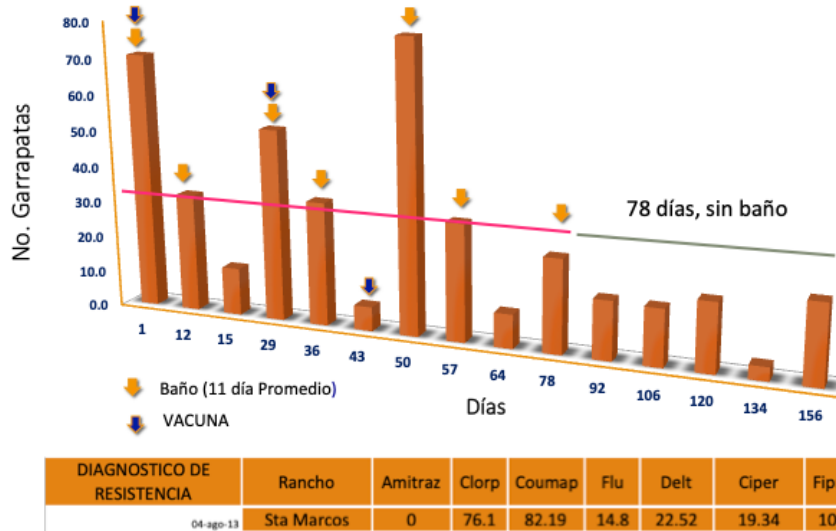
La gráfica 4 muestra los promedios de garrapatas durante los días de la prueba, además de los días de aplicación de la vacuna y los tratamientos garrapaticidas de aplicación cutánea y baños. En este rancho "El Barrunte" se decide iniciar la vacunación con dos aplicaciones de Fluazurón, con intervalos de 49 días, lo que permitió no bañar hasta el día 131, ya que los animales estaban libres de garrapatas, por la alta susceptibilidad del producto sobre las poblaciones de este ectoparásito. Se realizó solo un baño con una mezcla de Cyamizole 17.5%+ Cipermetrina 2.5 %, para aplicar una vez más con Fluazurón el día 182 y la vacunación de los 6 meses. La decisión de aplicar Fluazurón se debió a los resultados obtenidos en los diagnósticos de resistencia.

En la gráfica 5, se observa el comportamiento de las garrapatas *R. microplus* en bovinos infestados naturalmente en el rancho "Las Brisas", las vacunaciones con Bm86, los tratamientos y baños de soporte en el programa de control integrado implementado en mayo de 2018. Se decidió de acuerdo al diagnóstico de resistencia iniciar con la vacunación y el tratamiento con Fipronil, los baños han sido 9 en 419 días de seguimiento, de 47 días de intervalo en promedio, el umbral de garrapatas se ha mantenido por debajo de los 30, sin presencia de animales altamente infestados y la mayoría de los tratamientos han sido a base de Amitraz 12.5 %.

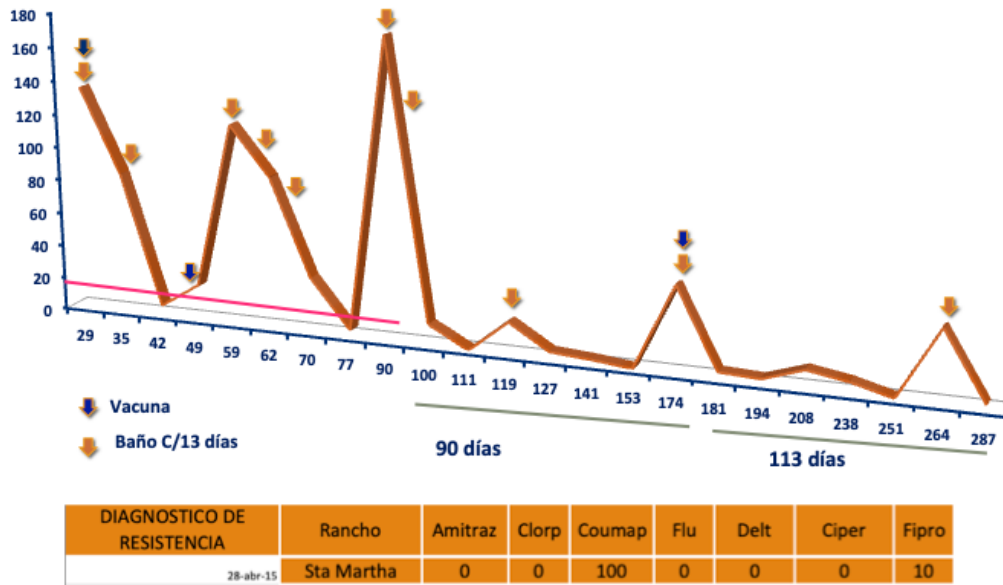


# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA

Gráfica 1. Promedio de garrapatas (0.4 -0.8 cm) *R. microplus* en ganado naturalmente infestado e inmunizado con Bm86, en el rancho “San Marcos” ubicado en Jesús Carranza, Veracruz.



Gráfica 2. Promedio de garrapatas (0.4 -0.8 cm) *R. microplus* en ganado naturalmente infestado e inmunizado con Bm86, en el rancho “Santa Martha” ubicado en Aldama, Tamaulipas.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA

Gráfica 3. Promedio de garrapatas (0.4 -0.8 cm) *R. microplus* en ganado naturalmente infestado e inmunizado con Bm86, en el rancho “Alexis” ubicado en Aldama, Tamaulipas.

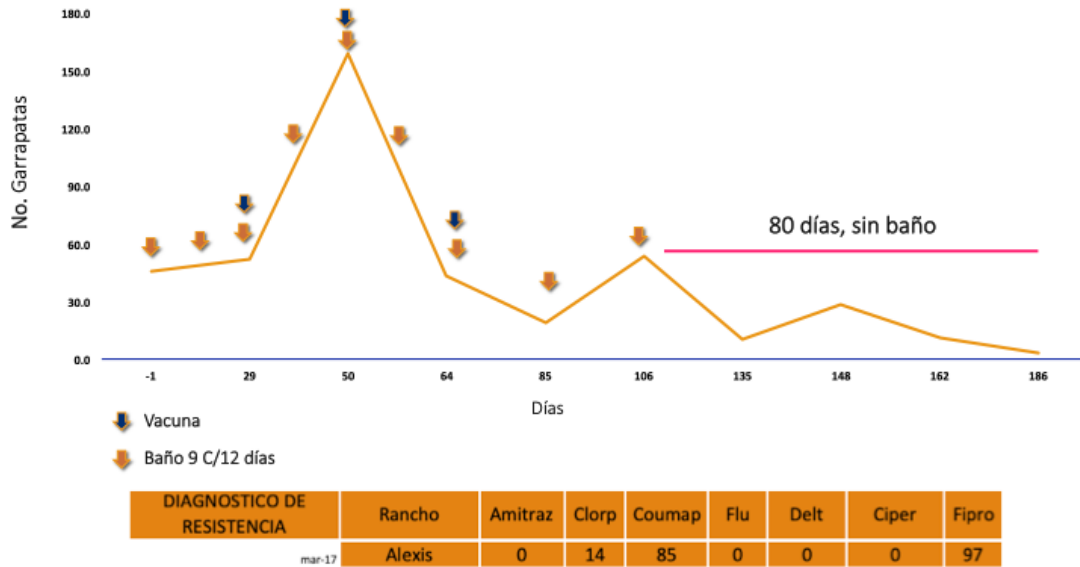
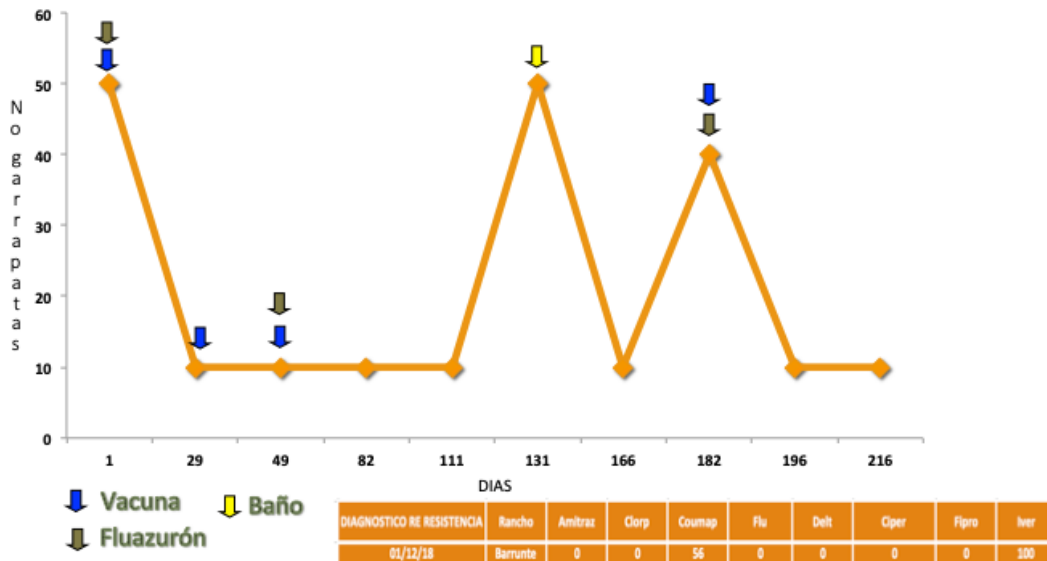


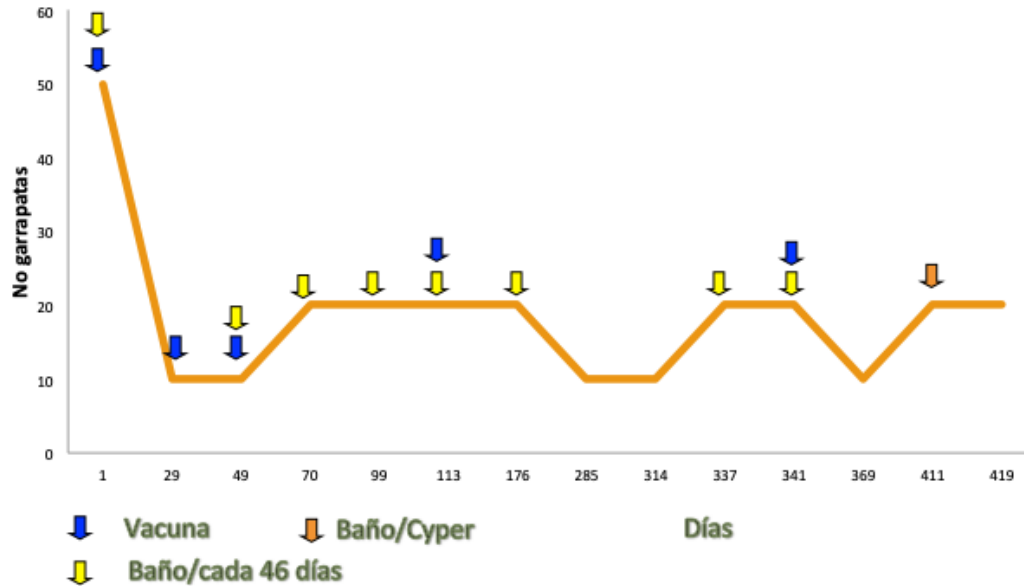
Gráfico 4. Promedio de garrapatas *R. microplus* en ganado naturalmente infestado e inmunizado con Bm86, en el rancho “El Barrunte” ubicado en Soto La Marina, Tamaulipas.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Gráfica 5. Promedio de garrapatas *R. microplus* en ganado naturalmente infestado e inmunizado con Bm86, en el rancho “Las Brisas” ubicado en Soto La Marina, Tamaulipas.



DIAG DE RESISTENCIA	AMITRAZ	FIPRONIL	DIAZINON	DELTA	CYPER	COUMAPHOS	CLORPIRIFOS	FLUMETRINA
MAYO 10, 2018	0	100	0.58	0	0	48.54	0	0

### Conclusiones

En los cinco ensayos realizados, los resultados obtenidos son similares, observándose una disminución de garrapatas *R. microplus* en los hatos vacunados con Bm86. Los intervalos entre los baños garrapaticidas, son más espaciados en la medida que transcurre el tiempo de la aplicación del programa. En ninguno de los casos hubo presencia de animales enfermos por hemoparásitos.

El ahorro en el recurso baño ha sido muy significativo en cinco ensayos ya que el intervalo de baño antes del ensayo era de 15 días. Se obtuvo durante la primera prueba intervalos sin baño de 78 días, para la segunda de 90 y 113 días. En el rancho “Alexis” 80 días.

La metodología de seguimiento mediante una tabla con promedios establecidos de garrapatas es adecuada para obtener información del comportamiento de las poblaciones de garrapatas en los hatos bovinos, sometidos a un programa de control con vacuna y plaguicidas de uso convencional. El estado de susceptibilidad de la población de garrapatas a los plaguicidas de uso convencional, para baño u aplicación tópica, es sumamente fundamental para obtener resultados más rápidos y satisfactorios, como lo podemos ver en las experiencias de los ranchos “El Barrunte” y “Las Brisas”, con el uso de Fluazurón y Fipronil, logrando una limpieza rápida y que el estado de inmunización se estableciera en el hato; de tal forma que se contribuyera con la disminución de garrapatas en fases de vida libre (< huevos y larvas en la pradera), por lo tanto menos infestaciones en los bovinos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

El desafío contra los niveles de infestaciones de garrapatas *R. microplus* en las tres primeras pruebas fue bastante significativo y los resultados de limpieza se vieron afectados por la poca susceptibilidad de los productos a las poblaciones de garrapatas de los ranchos, sin embargo, entre los días 80 a 100 posteriores a la tercera vacunación, los baños se alargaron satisfactoriamente.

Finalmente, la utilización de esta vacuna a base de Bm86 es muy prometedora en ranchos que presentan resistencia a casi todas las moléculas ixodicidas existentes; se debe manejar dentro de un programa de control integrado y el beneficio principal se obtiene en que no presenta riesgos de contaminación ambiental ni de subproductos derivados como carne y leche en los animales vacunados.

### Referencias bibliográficas

- Bram RA and Gray JH (1983) Eradication-an alternative to tick and tick-borne disease control. In Ticks and Tick-borne Diseases, FAO Animal Health and Production Paper 36: 54–59.
- Canales M, Enríquez A, Ramos E, Cabrera D, Dandie H, Soto A, Falcón V, Rodríguez M and J. de la Fuente. Vaccine (1997). Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac™ against cattle tick. Vaccine 15: 414-422
- FAO ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH PAPER 36. Ticks and tick-borne diseases. Selected articles from the WORLD ANIMAL REVIEW.
- Miller RJ, Almazán C, Ortiz-Estrada M, Davey RB, George JE, Pérez de León AA (2013a) First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of México. Vet. Parasitol. 191:97-101.
- Rodríguez M, Montero C, Redondo M, Méndez L, Valdés M, Leonart R, Pérez H, Seoane G, Vargas M, Borroto C, Serrano E, Boué O, Lodos J, Machado H. (2002). “Extensión e impacto de la vacuna Gavac en el programa de lucha contra *Boophilus microplus* en Cuba”. Premio Anual de Innovación Tecnológica, Agencia de Ciencia y Tecnología, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Resolución No. 09/2002.
- Willadsen P, McKenna RV. and Riding GA. (1988). Isolation from the cattle ticks *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host. International Journal for Parasitology. 18:183 – 189





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO NACIONAL SOBRE MOSCAS QUE AFECTAN AL GANADO

### ACTUALIZACIÓN DE DÍPTEROS: *Haematobia spp* Y SU CONTROL BIOLÓGICO. DIPTER UPDATE: *Haematobia spp* AND ITS BIOLOGICAL CONTROL

Galindo V E,<sup>1\*</sup> Pineda LJ<sup>1</sup>, Figueroa CD,<sup>1</sup> Aguilar KL,<sup>1</sup> Chan CW,<sup>2</sup>

Universidad de Colima: <sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Kilómetro 40. Autopista Colima-Manzanillo, Crucero Estación. Tecomán, Colima, C.P. 28000, México.

evelasco@ucol.mx

### RESUMEN

Los ectoparásitos (*Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*; desde los últimos ocho a diez años, tienen presencia continua durante todo el año principalmente en el ganado del estado de Colima, El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del hongo *M. anisopliae* (Ma14) a la concentración de  $1 \times 10^8$  conidias/gramo en combinación con Silicio 92% grado farmacéutico más agua purificada con Tween 80 al 0.1% para el control de la mosca *H. irritans* y *Stomoxys spp* en bovinos infestados de manera natural. El trabajo se realizó en el rancho ganadero "El Mariachi" en Tecomán, Colima, México, ubicado en las coordenadas 18°81'0" N, -103° 88' 0" O. El experimento se estableció bajo una distribución completamente al azar con tres tratamientos, dando un total de tres grupos y diez repeticiones para cada uno, incluyendo el testigo: (Grupo T1 (Testigo) agua purificada más diluyente Tween 80 al 0.1%, grupo (T2) 50% hongo combinado con 50% silicio más diluyente Tween 80 al 0.1%, grupo (T3) 25% hongo combinado con 75% silicio más diluyente Tween 80 al 0.1%. El análisis de varianza (ANOVA) y comparación de pruebas de medias de Tukey  $P \leq 0.05$ , mostraron diferencia significativas entre los tratamientos a partir del 3 día PT en los tratamientos de mezcla mas hongo con respecto al testigo y para determinar el porcentaje de reducción de moscas entre los tratamientos se analizo con la prueba T Student la mezcla de *M. anisopliae* 50% en combinación con silicio 50% (T2) mostró efectividad de 19.1% a un 56.6% y la mezcla de *M. anisopliae* 25% y silicio 75% (T3) mostró una efectividad de, 34.1% hasta 60.2% de reducción de moscas *H. irritans* en ganado bovino. Se observó que durante los registros no se encontró la mosca *Stomoxys spp*, por lo que efectivamente se le considera mosca de los establos.

**Palabras clave:** Control biológico, mosca del cuerno, mosca de los establos.

### Introducción

La productividad ganadera en el país se ve afectada por las moscas hematófagas (*Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*; taxonómicamente ubicadas como (Cyclorrhapha: Insecta) (Cruz-Vázquez, 2003); desde los últimos ocho a diez años, tienen presencia continua en el ganado del



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

estado de Colima, generando un problema permanente y dejando de ser un fenómeno de tipo estacional (Galindo-Velasco *et al.*, 2008;). Durante muchos años, el control de estos ectoparásitos ha sido con sustancias químicas (Cantú, 2002), actualmente se proponen alternativas de control mediante el uso de biológicos como *M. anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) el cual, es un hongo parásito, facultativo cuya reproducción asexual se realiza a partir de conidios, que al germinar sobre la cutícula del insecto producen toxinas, causando la muerte. Por otra parte los beneficios del silicio conocido como tierra de diatomeas, es un producto orgánico proporcionado por la naturaleza, del cual se indica que al ser aplicado en la parte externa del animal o mezclado, actúa como antiparasitario externo, siendo un producto completamente inocuo para el ganado destinado a la producción de carne. Para ello se planteó evaluar la combinación de *M. anisopliae* (Ma 14) I X10<sup>8</sup> conidios/gramo más silicio en diferentes concentraciones para el control de la mosca *Haematobia spp* y *Stomoxys spp* en bovinos de producción en pastoreo.

### Material y métodos

El estudio se realizó en el rancho ganadero “El Mariachi” en Tecomán, Colima, México, ubicado en las coordenadas 18° 81' 0" N, -103° 88' 0" O. A una altura de 30 msnm. El municipio cuenta con clima cálido subhúmedo. La temperatura media de 26.3° C. y precipitación media anual de 810.6 mm, que se concentran en el verano (INEGI, 2010). Se utilizaron 30 bovinos adultos, ambos sexos, cruza Cebú con Suizo Europeo, Brahaman, Holstein y Simmental, con un peso promedio de 450 kg aproximadamente. Se formaron tres grupos con diez bovinos cada uno, donde cada unidad fue una repetición. Se empleó un total de tres tratamientos incluyendo el testigo; grupo1 (T1 testigo) agua más diluyente Tween 80 al 0.1%, grupo 2, (T2) 50% hongo I X 10<sup>8</sup> conidios/gr combinado con 50% silicio más diluyente Tween 80 al 0.1%, grupo 3 (T3) 25% hongo I X 10<sup>8</sup> conidios/gr combinado con 75% silicio más diluyente Tween 80 al 0.1% (Zuñiga *et al.*, 2014). Los animales se mantuvieron en praderas con pasto Estrella Africana (*Cynodon niemfluensis*), con agua a libre acceso. Cada grupo fue identificado con un color de collar diferente. Los animales de cada grupo fueron bañados con un aspersor motorizado, mochila Forza 25 modelos k2p con una capacidad de 25 litros, con dos boquillas, se usó 5 litros de solución por animal. Los tratamientos se aplicaron dos veces con intervalos de 21 días y el número de moscas vivas se cuantificó los días 0, 3, 7, 14 y 21 (PT). Se realizaron conteos visuales desde la región de la cabeza, cuello, dorso, costados y miembros por un solo lado, para ello se utilizó un contador digital, el dato se multiplicó por dos, para hacer la estimación del total de moscas por animal (Guglielmone *et al.*, 2002). El manejo se realizó de 7:00 a 10:00 am se registro la cantidad de moscas sobre el animal para determinar el porcentaje de efectividad de las mezclas antes y después de la aplicación de la solución. El experimento se estableció bajo una distribución completamente al azar con tres tratamientos, y diez repeticiones para cada uno. Para determinar la significancia entre los tratamientos se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de pruebas de medias de Tukey P≤0.05, con el paquete estadístico StatGraphics Plus, y para determinar el porcentaje de reducción de moscas entre los tratamientos se analizó con la prueba T Student.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Resultados

La combinación del hongo *M. anisopliae* Ma14 a la  $1 \times 10^8$  conidias/gr, más diatomeas como material inerte grado pureza 98%, más el agua con Tween 80 al 0.1% en sus diferentes concentraciones para el control poblacional de los dípteros *H. irritans*, según análisis de Varianza muestran diferencias significativas a lo largo de la investigación, donde se observó que el tratamiento (T2 y T3) comparten significancia estadística ( $P \leq 0.05\%$ ), la mezcla de *M. anisopliae* 50% en combinación con silicio 50% tratamiento dos (T2), mostró una efectividad desde 19.1% a un 56.6% de reducción de la población de la mosca *H. irritans* y la mezcla de *M. anisopliae* 25% y silicio 75% (T3) mostró una efectividad mayor, que va desde 34.1% hasta 60.2% de reducción de moscas *H. irritans* en ganado bovino de pradera.

### Discusión

Estudios realizados en laboratorio, con las mismas combinación de silicio al 75% más hongo *M. anisopliae* al 25% y silicio al 50% más hongo al 50% muestran eficacias del 100% en garrapatas *Rhipicephalus* adultas y juveniles (Zúñiga *et al.*, 2014), datos diferentes al del presente estudio. Sin embargo, se partió de esta principio para el control de mosca en infestaciones naturales y se observó que la mezcla de *M. anisopliae* 50% en combinación con silicio 50% (T2) mostró diferentes porcentajes de control que van desde un 19.1% hasta 56.6%, de eficacia y la mezcla de *M. anisopliae* 25%, más silicio 75% (T3) fue mayor que va de 34.1% hasta 60.2% durante el periodo de estudio. Al igual que los estudios de Ángel- Sahagún *et al.* (2005) quienes demuestran que las pruebas *in vitro* de *M. anisopliae* es altamente infeccioso en diferentes estados biológicos de las moscas del cuerno produciendo mortalidades mayores al 90%, por otro lado Avila *et al.* (2006) evaluaron al hongo sobre adultos de *Haematobia* en bovinos bajo condiciones de pradera, en donde las eficacias fueron de 20 al 61%. Datos similares a los encontrados en el presente trabajo (19.1% al 60.2%) no siendo así los reportados por Maldonado *et al.* (2007) quienes evaluaron el *M. anisopliae* a la  $1 \times 10^8$  para el control de la mosca del cuerno, donde los resultados muestran una reducción de 37.5%. Lozada *et al.* (2011) también investigan silicio solo en bovinos, reportan que la presencia de moscas disminuye de 43 a 8 moscas promedio por animal y una efectividad que supera el 80%, así mismo el uso del silicio en perros donde la reducción de la población de moscas del cuerno alcanzó el 95%, demostrando alto índice de efectividad, a los del presente estudio. Datos por arriba de los encontrados en el trabajo de *H. irritans* sobre bovinos en condiciones de pradera de Tecmán Col. Comparando con lo realizado por Galindo *et al.* (2007, 2015) en condiciones de establo donde reportan que del día 3 al día 10 PT reducen la población de *H. irritans* desde 95 a 100%. Se concluye que las combinaciones de *M. anisopliae* con silicio más Tween 80 en sus diferentes concentraciones reducen las infestaciones de mosca *H. irritans* sobre bovinos en pradera, siendo el tratamiento T3 el que mostró mayor eficacia en su control (34.1% hasta 60.2%).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Ángel-Sahagún CA, Lezama GR., Molina OJ, Galindo VE, López EM, Rebolledo DO, Cruz VC, Reyes VWP, Skoda SR, Foster J.E. Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (*Hyphomycetes*). J Insect Sci 2005; 5, 50.
- Ávila JND, García PL, Alonso DMA, Gutiérrez S, Galindo VE, Lezama GR. Uso de hongos entomopatógenos *M. anisopliae* (cepa Ma34) (Metsch). Sor. En el control de *Haematobia irritans* en bovinos infestados naturalmente. 2006. VII Congreso Nacional de parasitología veterinaria Acapulco Guerrero.
- Cantú CA. Estudio sobre la resistencia de la mosca del cuerno (*Haematobia irritans*) a insecticidas en bovinos en Tamaulipas. Campo experimental Aldama INIFAP. 2002..1-6.
- Cruz-Vázquez C, Bautista HJ, Vitela MI, Ramos PM, Quintero MMT, García VZ. Distribución anual de *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) en tres establos lecheros de Aguascalientes, México. Vet Mex2003; 1, 195-199.
- Galindo-Velasco E, Cruz-Vázquez E., Lezama-Gutiérrez R., Reyes-Velázquez W, Aguilar-Espinoza S., Pescador-Rubio A. Fluctuación poblacional de *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) en un hato bovino en Tecomán, Colima, México. Vet. Méx. 2008.39 (2): 181-186.
- Galindo VE, Lezama GR, Cruz VA, Pescador RCA, Ángel-Sahagún MM, Ojeda CRI, Rodríguez VI, Contreras LD. Efficacy of entomopathogenic fungi (Ascomycetes: Hypocreales) against adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) under stable conditions in the Mexican dry tropics. Vet. Parasitol. 2015; 209,173–178.
- Guglielmone AA, Volpogni MM, Quaino QR, Anziani OS, Mangold AJ. Long-term study of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) seasonal distribution in central Argentina with focus on winter fly abundance. Parasit. 2002;8, 369-373.
- Lozada H, Gutiérrez A, Soto P. Efecto de la tierra de diatomeas, como antiparasitario en una ganadería lechera en el Piedemonte llanaero. Rev. Sist. Prod. agroecol. 2011. vol 2. No.1.
- Maldonado SE, Amendola MRD, Galindo VE, Ángel-Sahagún CA, Bermúdez VL, Lezama GR. Impact of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on cattle naturally infested by adult *Haematobia irritans* in temperate Mexico. J Anim Sci2007;85, 473-473.
- Zúñiga GAR, Galindo EV, Pineda JL. Seminario de Investigación II. Control Biológico de Garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) con hongo *Metarhizium anisopliae* y silicio *In Vitro*. Universidad de colima, Colima, México 2014.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## GENERALIDADES EN EL CONTROL DE MOSCAS PICADORAS CUANDO FALLAN LOS INSECTICIDAS EN UN ESTABLECIMIENTO DE BOVINOS LECHEROS

MVZ David Fernández Rivera\*, MVZ Meliton Lara Rocha

tier2062@yahoo.com

Las moscas picadoras representan uno de los retos más comunes y a la vez más complicados de manejar en la práctica diaria. Los problemas de altas densidades de población y por ende la falla en los sistemas de eliminación de estiércol favorecen el establecimiento de altas poblaciones, así como su reproducción casi ininterrumpida durante todo el año, teniendo solamente bajas durante los meses fríos del año. Estas moscas sinantrópicas (que viven alrededor del hombre), representan un peligro severo para los animales, pero también lo representan para los empleados de los establos al relacionarse con problemáticas intangibles como enfermedades gastrointestinales, picaduras en algunos corrales, resistencia por atender ciertas áreas, ausentismo y trabajo realizado rápido y con poco interés. De igual manera problemas de concentración dentro de oficinas con secretarías y personal administrativo, por otro lado, en producción las principales preocupaciones que nos causan se refieren principalmente a las bajas en la producción de leche, que pueden ir de un 10 a un 20%, debido al estrés que las moscas picadoras causan a las vacas y a problemas asociados con oftalmítis, mastitis y diarreas en becerras.

Las principales dificultades a vencer radican en tres aspectos básicos, el primero está representado por el gran potencial reproductivo de esta plaga y el segundo por su versatilidad de desplazamiento en áreas relativamente lejanas y el tercero la susceptibilidad al esquema químico que se plantee.

Varios de los aspectos a considerar cuando se plantea un programa de manejo integrado de plagas son:

- a) qué tipo de insecticida se debe elegir
- b) monitoreo para realizar un adecuado manejo de poblaciones resistentes
- c) evitar residuos de insecticidas en carne y leche
- d) adaptación de los programas a los sistemas de producción presentes
- e) impacto ambiental del estiércol tratado sobre terrenos agrícolas y fauna presente
- f) congruencia entre el costo y el beneficio, basado en la producción
- g) el conocimiento de que las moscas no pueden ser erradicadas, por lo que debemos mantener medidas de control como rutina.

El objetivo principal de un manejo integrado de plagas es disminuir el nivel de infestación al mínimo económicamente viable, para que se reduzcan o desaparezcan los efectos económicos. Las medidas de control que van a tomarse, deben aplicarse de acuerdo a la biología y la ecología de la plaga a tratar. Por lo tanto, para un manejo integrado de moscas efectivo, debemos estar familiarizados con la biología de las moscas.

### 1.-Inspección



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- 2.-Control no-químico: higiene y sanidad, exclusión, trampas eléctricas etc.
- 3.-Susceptibilidad de la población y opciones en el control químico
- 4.-Monitoreo.

### 1.-Inspección

Una vez identificado el insecto, la clave para el control eficaz es la identificación de la fase o estadio más vulnerable dentro del ciclo vital del insecto. Esto significa, por ejemplo, que vale la pena desarrollar una estrategia de control para el estado de huevo de un insecto, si la población está en una dinámica poblacional donde 80 % está en un estadio, vale la pena plantear una estrategia económicamente rentable que vaya acorde con las posibilidades de atacarlo en el momento justo. cuando se ha identificado el estadio o los estadios vulnerables, es cuando se debe desarrollar la estrategia de control (Lectura del estiércol).

Para un exitoso control de moscas, se deben recolectar muestras. Su evaluación ayudará al conocimiento de la dinámica de población y a ubicar los posibles sitios de multiplicación.

### 2.-Control no-químico

Las moscas necesitan alimento, agua y refugio para sobrevivir. Al reducir estos factores, las moscas también se ven afectadas. Contrariamente, si tenemos mala higiene y un mantenimiento inadecuado continuarán los problemas de moscas. En nuestro país a diferencia de otros, cualquiera puede hacer el manejo que desee del estiércol, tomándolo en cuenta como solo un desecho y no una fuente de nutrientes para las plantas, donde el punto de contenido de nitrógeno debería ser muy tomado en cuenta, el control de moscas que ocupan ese nitrógeno hace entonces un fertilizante de mejor calidad para la agricultura, que uno no cuidado

Cuando existen infestaciones de poblaciones ya establecidas, puede ser imposible reducir la población solamente con higiene y sanidad; por lo tanto se deben integrar otros métodos de control de tipo físico, como sería el aislamiento mecánico ( mosquiteros, puertas dobles, etc. ), trampas de goma y luz. Asociados con manejo de estiércol, orden y progreso del almacén, manejo de sólidos y lixiviados, uso de enzimas, composta y fermentación anaeróbica

### 3.-Métodos químicos

Estos programas ubican 2 tipos de estrategia según la fase de ataque

- a) fases móviles

*Efecto de repelencia y resistencia a los insecticidas*

Indicaciones: Moscas picadoras

Muchos de los insecticidas son sustancias, que por si solas logran un efecto de malestar en los insectos, haciendo que estos eviten posarse en los sitios donde se encuentra presentes, este efecto



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

se consigue de igual manera si esta sustancia se encuentra en el aire flotando o presente en una superficie, sin importar que las moscas sean picadoras o lamedoras, resistentes o no al producto.

Formulaciones ideales para lograr este efecto

Varios de los insecticidas y entre ellos piretroides en dosis altas provocan este fenómeno en los insectos, sin embargo su presencia o no, depende en gran parte de la disposición de los cristales presentes según el tipo de formulación que se pretenda escoger; por ejemplo las formulaciones llamadas flow o suspensiones concentradas ubican un proceso de molienda de los cristales en su formulación, fragmentándolos y uniéndolos a la vez, formando una estructura parecida a una estrella ,( de medidas cercanas a los 40 micrones, mientras que un cristal normal mide aproximadamente 2 a 5 micrones ) la cual es detectada fácilmente por los insectos evitando su contacto con la superficie donde este presente por lo menos durante 15 a 25 días. (posteriormente la estrella se deshace y libera los cristales, perdiéndose el efecto de repelencia y comportándose ahora como un cristal común que deberá unirse al cuerpo del insecto o ser comido para causar su efecto letal).

Modo de aplicación:

Estos productos se aplican mediante aspersión normal fina, con una bomba de mochila motorizada o manual, las aspersiones ubican un gran numero de gotas en las superficies tratadas de menos de 0.5 mm de diámetro

En el caso de formulaciones de piretroides en formulación de solución concentrada, la toxicidad existente es muy baja, lo cual los hace ideales para su uso en instalaciones como:

Sala de ordeña, cuarto de enfriamiento  
Becerreras ( cajón y edificio)  
Oficinas  
Interior de área de embarque

*Formulaciones con efecto letal por contacto.*

### FORMULACIONES EN CONCENTRADOS EMULSIONABLES

Indicaciones. Moscas lamedoras y picadoras

Las formulaciones tipo concentrado emulsionable son ideales para realizar aplicaciones mediante la formación de nieblas en frío o caliente.

Para la aplicación de nieblas en frío se recomienda utilizar maquinas nebulizadoras de ultra bajo volumen, es decir la niebla expelida de la mezcla del insecticida y el agua deberá contener por lo menos un 70% de gotas con un diámetro de 25 micrómetros, esto permitirá que la niebla pueda penetrar por lo menos 50 metros, tardando las gotitas que la forman, de 3 a 5 minutos en caer, logrando en este tiempo impactarse en las moscas que estén en reposo o volando en el interior de la niebla en ese momento.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Por otro lado este tipo de niebla también puede lograrse mediante aparatos de nebulización térmica, en el cual el concentrado emulsionable se combina con diesel o queroseno con objeto de formar una niebla visible en la cual estarán suspendidas las gotitas con el insecticida, la niebla se libera tan cerca del suelo como sea posible, y la velocidad del viento no debe ser mayor a 6 km / hora ( es decir que no alcance a mover las hojas de los árboles, esto sucede frecuentemente entre 5 de la mañana y 7 am ) las primeras ocasiones puede llegar a asustar a los animales razón por lo cual se recomienda solo utilizar con becerras, sementales o vacas vacías, para el caso de animales en producción se recomienda utilizar agua como solvente, logrando de esta manera una niebla transparente, evitando así bajas en la producción, se debe de consultar el producto de elección ya que no todos se pueden utilizar bajo este esquema de combinación con agua.

La residualidad de estas aplicaciones es nula, así que se recomiendan para abatir la población de moscas de solo un día, y deben de aplicarse a diario en temporada de moscas.

Por otro lado este tipo de formulaciones no son indicadas para control de moscas cuando su aplicación se realiza en superficies absorbentes (madera, aplanados de yeso o cemento, tabique o adobe), dado que su residualidad es baja al ser absorbidos los cristales dentro de el sustrato, sin embargo resultan adecuadas al ser aplicadas en superficies no absorbentes, ofreciendo residualidades de hasta 25 días (tuberías , mosaico o paredes pintadas que no estén sucias, recubiertas con pintura vinílica o de aceite).

Para el caso específico de los polvos humectables, estos se recomiendan de aplicar en superficies muy absorbentes, su poder residual rebasa los 25 días, en el caso de piretroides y es cercano a los 20 días en el caso de los organofosforados, no se recomienda su uso en superficies no absorbentes ( tubería, mosaico etc....)

### CEBOS.

Indicaciones. Moscas lamedoras

Uno de los mejores métodos existentes para el control de grandes poblaciones de moscas lamedoras esta constituido por los cebos, los ingredientes activos forman parte importantísima , ya que el efecto debe de ser casi instantáneo, logrando de esta manera evitar la dispersión de las moscas, entre los ingredientes activos mas comunes esta el metomil (carbamato), el thiametoxam y el Imidaclorpid (neonicotinoides) , aunque no son ingredientes activos extremadamente tóxicos, se adiciona a la formulaciones una sustancia amargante llamada bitrex, la cual si es ingerida en pequeñas concentraciones sugerirá un sabor amargo y si es deglutida funcionara como una sustancia emética, además estos cebos contienen atrayentes de tres tipos, de color, alimenticios y hormonales.

Los tipos de formulaciones pueden ser granulados y/o micropelletizados, la idea de este tamaño consiste en ubicar la mayor posibilidad de contacto con las moscas lamedoras y tengan efectos de intoxicación tarsales en moscas picadoras

#### Atrayente de color

En lo referente al color varios estudios han registrado una preferencia marcada por los tonos amarillos naranjas, pudiendo ofrecerse como cebos formulaciones solo en color amarillo o mezclas de gránulos rojos y amarillos. Algunas otras formulaciones incluyen en la mezcla gránulos de color





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

negro en una proporción mas baja con la idea de atraer mas efectivamente a las moscas lamedoras, buscando al usar estos colores siempre permanecer con una longitud de onda de la radiación del espectro electromagnético de entre 500 a 650 nm

### Atrayente alimenticio

En cuanto a este tipo de atrayente se recomienda que el tamaño de la partícula sea pequeño ( granulo o micropellet) con la idea de lograr una buna dispersión y un contacto amplio con la pieza bucal especializada de la mosca lamedora

Por otro lado la variedad de carbohidratos esencialmente sacarosa de los cebos es importante, debido a la relación entre la cantidad regurgitada de saliva de la mosca contra la cantidad disuelta del toxico que ingerirá posteriormente.

### Atrayente hormonal

Varios de estos cebos contienen en su formulación atrayentes hormonales, los cuales logran efectivamente atraer a las moscas hasta por distancias de 1.5 m, estos atrayentes son capaces de volatilizarse y ser detectados en el aire circundante al cebo ofrecido , esto sucede por periodos de hasta 12 días, perdiéndose gradualmente el efecto.

Modo de aplicación: Uno de los modos que mejor funciona la aplicación de estos cebos es mediante su exposición en costales, en cuerdas o cepillos en las diferentes áreas donde se ubican altas poblaciones de moscas adultas.

La dosificación es cercana a los 250 g para un costal plástico de yute (el cual debe ser humedecido previamente o impregnado con engrudo), se recomienda la aplicación de los costales cada 20 metros a lo largo de los corrales en el área de reposo de las moscas.

La revitalización del cebo puede hacerse rociando levemente el costal con agua cada 20 días.

Sitios donde se recomiendan:

### Becerreras

Corrales de vacas en producción

Salas o corrales de expulsión de becerros

Exteriores de tanque de refrigeración o sala de ordeño

(embarque de la leche)

### CEBOS DE APLICACIÓN COMO PINTURA

Estos cebos están ideados para versatilizar el ataque mediante atrayentes como los discutidas anteriormente, aunque estos son formulados con azúcar molida o glass como inerte de la formulación, se incluyen un insecticida, un atrayente hormonal, sin embargo en este caso el color no es trascendente. Si no mas bien la ubicación de los puntos de cebado los cuales deben de ser muchos en lugar de un punto de cebado grande.

Estos cebos pueden revitalizarse con un rociado de agua



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Sitios donde se recomienda:

Becerreras

Corrales de vacas en producción

Salas o corrales de expulsión de becerros

### TRATAMIENTO SOBRE LOS ANIMALES

#### Pruebas de susceptibilidad

Antes de aplicar nada es necesario realizar pruebas de caminata forzada y compararlas contra las dosis discriminantes existentes para moscas en México. Y pruebas de efectividad en jaula con la idea de medir profundidad de la nube de insecticida que se plantee utilizar.

Una vez elegidos los insecticidas ideales, estas pruebas se deberán repetir cada 3 meses para asegurar que la presión de selección no este generando poblaciones resistentes

El esquema de tratamiento que hasta la fecha ha demostrado ser el mas efectivo en un manejo integral de moscas en establos lecheros es el de mosaico, asociando medidas químicas con medidas físicas específicas.

Para las moscas de tipo chupador, lo ideal es un tratamiento sobre los animales con productos formulados para tal efecto como Piretroides en formulación Pour - on. La intención de estos tratamientos es crear una película mediante estos productos base aceite o parafina con la idea de lograr un marcado efecto de repelencia, asistido por la inclusión de un piretroide como ingrediente activo.

Se sugieren periodos de protección de hasta 15 días.

La aplicación es directamente sobre las cañas de los animales al momento de la ordeña si el problema es de moscas picadoras

#### b) Fases no móviles ( huevos, larvas y pupas)

##### Aspersión sobre sitios de reproducción

Esta fase de la vida de las moscas es la mas vulnerable a los manejos químicos, debido a que su motilidad es muy limitada, el rango de movimiento es cercano a los 10 cm de profundidad de la capa de materia orgánica en la cual están viviendo, razón por la cual se pueden utilizar dos tipos de ingredientes activo, el primero compuesto por los insecticidas reguladores del crecimiento y el segundo por los insecticidas organofosforados.

Los insecticidas reguladores del crecimiento basan su acción en la inhibición de algunas enzimas que controlan la muda hormonal de las larvas así como de la metamorfosis que ocurrirá en la pupa de la mosca, impidiendo de esta manera el crecimiento y maduración de la siguiente etapa o instar que el insecto tenga.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Una de las ventajas es que no son similares a las utilizadas por los mamíferos lo cual les confiere un grado de seguridad alta, es decir son muy poco toxica, sin embargo el precio es en ocasiones una limitante. Estas sustancias respetan el medio ambiente y la calidad del estiércol como abono se mejora hasta en un 60 % al no existir larvas de moscas que utilicen el nitrógeno acumulado en este.

Dentro de estas sustancias actualmente se cuenta con ingredientes activos como acido borico, tetraclorvinphos y triflumuron, los cuales han demostrado ser activos en contra de estos parásitos.

Existe otra familia de productos que son los órgano fosforados y los metabolitos resultantes de su degradación bacteriana, los cuales también pueden ser aplicados en la materia orgánico como elementos de control de huevos y larvas, recientemente se han realizado estudios en el centro nacional d parasitología animal determinando las dosis necesarias para el Control de larvas y huevos de moscas. Tienen problemas medio ambientales y su uso no es de lo mas conveniente.

La aplicación de los larvicidas, se realiza mediante la técnica de aspersión gruesa por medio de el tractor o una parihuela sobre el estiércol, con objeto de formar una costra que incida por lo menos en 3 cm de la capa mas superficial del estiércol, siendo esta claramente afectada por el agua de lluvia, lixiviándola, es por esto que el monitoreo será básico para ajustar las dosis requeridas de producto y agua utilizada como diluyente

Sin embargo, dosificaciones cercanas a las 15 ppm serán suficientes para lograr un control exitoso

#### 4.-Inspección, Replanteamiento del programa, Monitoreo

En este punto todo se vuelve a replantear, con base en el efecto de lo que ha sucedido, y el replanteamiento se basa en la medición de la población restante y su localización.

Evaluacion mediante graficas de avance, y comparativas con años anteriores

#### Referencias bibliográficas

- Schlinger, E.I. (1980). Family Acroceridae. pp. 377-380 in Crosskey, R.W. (ed.) *Catalogue of the Diptera of the Afrotropical Region*. London : British Museum (Natural History) 1437 pp.
- Schlinger, E.I. (1981). Acroceridae. pp. 575-584 in McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H.J., Vockeroth, J.R. & Wood, DM. (coordinators) (eds) *Manual of Nearctic Diptera*. Ottawa : Research Branch Agriculture Canada. Monograph 27 Vol. 1 674 pp.
- Schlinger, E.I. (1987). The Biology of Acroceridae (Diptera): True Endoparasitoids of Spiders. pp. 319-327 in Nentwig, W. (ed.) *Ecophysiology of Spiders*. berlin, Heidelberg and New York : Springer-Verlag 427 pp.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## MOSCAS DEL CUERNO: EVALUACION DE PRODUCTOS PARA SU CONTROL Y RESISTENCIA EN MEXICO.

### FLY FLIES: EVALUATION OF PRODUCTS FOR CONTROL AND RESISTANCE IN MEXICO

M en C. MVZ. Francisco Martínez Ibáñez

Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. Carr. Federal Cuernavaca-Cuautla  
No. 8534. Col., Progreso, Jiutepec, Mor. C.P. 62550. CENAPA-SENASICA-SADER.

pacomtzi@yahoo.com.mx

#### RESUMEN

Las moscas son insectos pertenecientes al orden Díptera son de gran importancia en salud pública y veterinaria, destacando debido a los daños que ocasionan en la ganadería en México las que comúnmente se encuentran en el ganado bovino: *Haematobia irritans* (mosca del cuerno), *Stomoxys calcitrans* (mosca del establo) ambas con hábitos estrictamente hematófagos y *Musca domestica* (mosca doméstica). Las dos últimas son las llamadas moscas de los establos, preferentemente parasitan explotaciones intensivas o semi-extensivas como son las explotaciones lecheras o corrales de engorda; y la primera se encuentra principalmente en ganado criado en agostaderos de regiones tropicales y subtropicales. Estos Múscidos se encuentran distribuidos en todo el continente Americano. La importancia de esta plaga radica en los efectos adversos sobre la producción ya que una intensa infestación, ocasiona una reducción del 8% al 22% de ganancia de peso en ganado en pastoreo y en ganado lechero, debido a la molestia y estrés afecta la producción láctea entre 10 y 20%.

Debido a la gran importancia que estas moscas representan para la ganadería, una serie de alternativas han sido utilizadas para el combate y control de esta plaga, sin embargo la aplicación de sustancias químicas sobre el cuerpo de los animales infestados, el tratamiento de estiércol y paredes, han sido hasta ahora los más eficaces para el control de estas plagas, actualmente para su control se utilizan los productos Organofosforados, Piretroides sintéticos y actualmente Lactonas macrocíclicas y Fenylpirazonas además de Inhibidores del desarrollo ó reguladores del crecimiento, específicamente para el control de larvas de mosca.

Contar con una Norma Oficial que regule la efectividad biológica en campo de la mosca del cuerno *Haematobia irritans*, permite conocer la residualidad del químico y medir su efectividad en diferentes intervalos de tiempo, esto con el propósito de diseñar estrategias de control basados en el comportamiento toxicológico sobre las moscas con el objetivo de disminuir las poblaciones del ectoparásito en los ranchos y tener mayor productividad en los mismos.

México cuenta con técnicas que puedan medir la susceptibilidad o resistencia de las moscas del cuerno a nivel campo, es una herramienta fundamental en el diseño de estrategias de control contra este díptero, así mismo poder regionalizar áreas donde la mosca es resistente a diversas familias o



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

susceptible a productos de la misma familia, orienta a aplicar los químicos con una mayor certeza de efectividad en diversos intervalos de tiempo. Actualmente se han monitoreado 11 estados de México a la familia de los piretroides y organofosforados, encontrándose resistencia a todos a los piretroides, mientras que para los fosforados la resistencia se limita a Veracruz y Tabasco con el diazinon, el resto de los estados susceptibles y para clorfenvinfos solo es resistente Veracruz y los 10 estados restantes susceptibles.

### IMPORTANCIA Y MORFOLOGIA DE LAS MOSCAS

La mosca del cuerno *Haematobia irritans* es un insecto hematófago del ganado y representa conjuntamente con la garrapata del bovino *Boophilus microplus* una de las plagas de mayor importancia económica en regiones de clima tropicales y subtropicales. A fines del siglo XIX esta mosca era endémica de Europa, de donde fue introducida a los Estados Unidos de Norteamérica en embarque de ganado a fines de 1800, extendiéndose rápidamente hacia la Costa Oeste y regiones ganaderas del sur y suroeste de ese país. Alcanza finalmente la República Mexicana a partir de los estados del norte, para después difundirse por todas las regiones ganaderas. (Romano 1991, Schmidt *et al* 1978, Williams *et al* 1985) Esta mosca causa una intensa irritación al ganado, así como grandes pérdidas económicas como es la disminución en la ganancia de peso y leche. El ganado fuertemente infestado puede sufrir una pérdida de 0.5 libras de carne por animal por día y la producción de leche puede reducirse en un 10 a 20% (Franco y col 1997).

La importancia de esta plaga radica en los efectos adversos sobre la producción ya que una intensa infestación ocasiona una disminución en la ganancia de peso del ganado, esto debido a la molestia y el estrés que ocasiona la picadura del insecto (Romano, *et al* 1991).

La constante sangría ocasiona que los animales se defiendan mediante movimientos de cabeza, cola, oreja y contracciones cutáneas; los animales infestados se tornan inquietos, no se alimentan, no duermen y ambulan esperando liberarse del parásito. El aumento de la actividad móvil y el nerviosismo repercuten en la ingestión de alimento, se presenta un mal aprovechamiento de los pastos, un menor aumento de peso y una reducción en la producción lechera (Romano y col 1991, Kunz and Schmidt 1978).

La mosca del cuerno mide 4 mm de longitud y su tamaño es la mitad de una mosca del establo y doméstica, cuando esta posada sobre el bovino se ubica en una típica posición corporal orientando su cabeza hacia abajo, con sus alas semi abiertas en forma de un ala delta que se mueve lentamente junto a su cuerpo (CONASA 1993, Romano 1991, Williams *et al* 1985).

El ciclo biológico de estas moscas pasa por cuatro estadios que son: huevo, larva, pupa y adulto. *H. irritans* permanece toda su vida sobre el cuerpo del animal, el éxito de su desarrollo, alimentación y reproducción depende de la presencia del ganado bovino y su etapa larvaria lo lleva a cabo en el estiércol fresco (Kunz and Schmidt 1978, Abbott 1925, Aldana y col. 1997)

En México se ha reportado en la cuenca lechera de Aguascalientes parasitando ganado Holstein estabulado y se piensa que en diversas regiones donde se explota ganado estabulado destinado a la producción de leche se encuentra compartiendo hábitat con *S. calcitrans* y *M. domestica*. En



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

ganado de doble propósito ubicado en zonas tropicales y subtropicales se encuentran presentes estos dípteros (Cruz y col 1998, Cruz y col 1999).

### CONTROL DE LAS MOSCAS

Hasta 1970, el combate de estos dípteros se basaba principalmente en la aplicación de insecticidas al ganado mediante baños de inmersión y aspersion, sin embargo a partir del 2002 y hasta la actualidad otros métodos de aplicación se han utilizado para mejorar la eficacia y aumentar la persistencia de los productos como son los de aplicación epicutánea (pour-on), inyectables, spot-on y actualmente aretes insecticidas con buena efectividad.

Varios métodos de tratamiento han sido utilizados para combatir estos ectoparásitos, los cuales han sido desarrollados para incrementar la eficiencia y control de esta plaga. Debido a la gran importancia que estas moscas representan para la ganadería, una serie de alternativas han sido utilizadas para el combate de esta plaga, sin embargo la aplicación de sustancias químicas sobre el cuerpo de los animales infestados, el estiércol y las paredes, han sido los más eficaces para el control de estas plagas, por lo que actualmente se utilizan los compuestos como: Organofosforados, Piretroides sintéticos, Lactonas macrocíclicas, Fenylpirazolonas y actualmente Inhibidores del desarrollo ó reguladores del crecimiento, específicamente para el control de larvas de mosca en estiércol (Romano y col 1991, CONASA 1993, Romano 1991).

Un factor que ha aparecido con el uso de productos químicos y que es considerada como la principal limitante en su utilización, es la resistencia y esto ocurre en todas las áreas donde el ganado ha sido tratado constantemente con insecticidas. Su presencia ha sido definida como el problema de mayor importancia para el control de las plagas, ya que se torna parcial o totalmente ineficiente los insecticidas hacia los cuales se manifiesta (Franco y col 1997).

La resistencia implica la necesidad de cambiar de producto y replantear las estrategias y recomendaciones, de acuerdo a las condiciones particulares de intensidad y extensión, aunque esta se manifiesta en el campo como una posible falla de control, debe tenerse especial cuidado ya que esta no es la única causa que provoca pérdidas en la eficacia de los insecticidas, un aspecto importante es el manejo inadecuado de los productos o errores en la calendarización de tratamientos.

Recientes investigaciones han demostrado que las ivermectinas presentan un amplio espectro de actividad antiparasitaria en una gran variedad de artrópodos (Guglielmone *et al* 1999). Estudios reportan que las ivermectinas son efectivas contra estadios inmaduros en mosca del cuerno *Haematobia irritans* (L.), mosca del establo *Stomoxys calcitrans* (L.), mosca de la cara *Musca autumnalis* De Geer, y mosca domestica *M. domestica* (L.) cuando es aplicado a los animales mediante tratamientos orales, subcutáneos o epicutáneos (Franco y col 1997). Hay estudios donde mencionan que hay una efectividad del 100% sobre la fase de emergencia (pupación) hasta por 21 días posteriores al tratamiento (Martínez y col, 2006)

### Antecedentes de la resistencia en México

En México, desde los años 60's se conoce que los productos organofosforados se utilizaron para el control de artrópodos ectoparásitos, sin embargo, es hasta el inicio de la Campaña Nacional Contra la Garrapata en 1975 cuando éstos se usan en forma sistematizada y constante. De 1981 a 1984 la



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

resistencia en *Boophilus microplus* hacia este tipo de ixodicidas es diagnosticada en zonas ganaderas del golfo de México, por lo que otros compuestos químicos con diferentes mecanismos de acción son registrados en el país como alternativas para el control de este tipo de cepas resistentes, estos productos fueron de la familia de los piretroides sintéticos a partir de 1986. Los primeros en utilizarse fueron la deltametrina y cipermetrina y se usaron ampliamente por su alta efectividad y fácil aplicación (Aguirre *et al.*, 1986).

A partir de 1986 se comenzó a utilizar moléculas de la familia de los piretroides como la deltametrina, cipermetrina, cyflutrina y permetrina para el control de la garrapata *B. microplus*, en presentación de concentrados emulsificables y epicutánea (pour-on) utilizándose estos productos también para el control de la mosca del cuerno *H. irritans* en ganado en pastoreo de doble propósito (CONASA, 1993).

Los piretroides presentan una alta efectividad, baja toxicidad y poseen la característica de ser altamente persistentes en el organismo, por lo cual son los compuestos químicos de elección en programas de control de garrapata resistentes a organofosforados, por su alto poder insecticida reducen poblaciones de mosca del cuerno, aun cuando no se aplica la dosis exacta para este díptero.

Esta exposición a los piretroides ha favorecido y es causa de resistencia a insecticidas debido a que éstos sólo se utilizaron para el control exclusivamente de la garrapata del ganado, por esto se presentan en la mosca casos de comportamiento atípico en zonas donde la garrapata es resistente, observándose un aumento gradual de las poblaciones de mosca del cuerno en el campo, después de las aplicaciones a intervalos frecuentes de los insecticidas (Kunz, 1991; Kunz *et al.*, 1995).

*Haematobia irritans* es un ectoparásito hematófago que a partir de 1986 empieza a diseminarse y a ser considerada como una plaga de importancia en la ganadería extensiva de México, básicamente en climas tropicales y subtropicales.

A fines de 1990, los piretroides empezaron a mostrar fallas en el control y disminución de su efecto protector; tal fenómeno se manifestó como un aumento en las poblaciones de esta mosca principalmente en las regiones tropicales y subtropicales durante casi todas las épocas del año (Santamaría *et al.*, 1995).

Siete años después de autorizados los piretroides, en 1993 se detectaron los primeros casos de resistencia a este grupo en el municipio de Soto la Marina, Tamaulipas, Emiliano Zapata, Tabasco, en el sur del estado de Veracruz y en San Luís Potosí (Kunz *et al.*, 1995). Se confirmaron los casos de resistencia en garrapatas principalmente a los piretroides: flumetrina, deltametrina y cipermetrina en estos ranchos, así mismo se reportó en estas zonas un aumento gradual de la población de mosca del cuerno por parte de los ganaderos y una dificultad para combatir esta plaga siendo esta su mayor problema, más que la garrapata del ganado (CONASA, 1993).

El diagnóstico de resistencia en mosca se ha efectuado de 1993 a 1996 en 13 predios de diferentes fechas mediante la técnica descrita por Sheppard. De igual forma que en garrapatas existían fuertes sospechas de que el problema estaba ampliamente difundido debido a las fallas de control notificadas por los ganaderos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En 1994 se inicia un programa de monitoreo en zonas donde hay alta infestación de garrapata coincidiendo con el aumento de población de *H. irritans*, mientras que en el Laboratorio de Dípteros del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA DGSA -SARH) se desarrolló una técnica para el diagnóstico de resistencia hacia los piretroides. A partir de esta fecha se realizan los primeros diagnósticos de resistencia a piretroides en ranchos del noreste del país, por lo que se considera que su dispersión es amplia, abarcando la mayoría de las regiones ganaderas y sólo se monitorean ranchos que son reportados con presencia de comportamiento atípico de la población del díptero.

La resistencia fue determinada utilizando el piretroide fenvalerato en 1993 y permetrina, deltametrina y cipermetrina en 1996. Los resultados pudieron concluir que el fenómeno estaba difundido y con muy altos índices de resistencia.

En 1998 aumentó el número de informes sobre fallas de control de los piretroides en sus diferentes presentaciones comerciales, dando inicio un monitoreo constante en las diversas zonas ganaderas del trópico y subtropical, tanto en el Golfo como en el Pacífico y en la zona centro del país, para determinar el comportamiento toxicológico a los piretroides de la mosca del cuerno (Kunz *et al.*, 1995) y a finales del mismo año se comienza con los primeros ensayos para establecer y determinar las dosis discriminantes a los productos organofosforados (diazinon y clorfenvinfos) y para mediados de 1999 se estableció la técnica de resistencia a dichos productos para su diagnóstico en campo. Actualmente, se realizan las técnicas de diagnóstico de la resistencia a organofosforados y piretroides en zonas donde se sospecha de resistencia a dichos productos.

Para México, las pruebas de laboratorio para determinar la resistencia y susceptibilidad de una población de *H irritans* se basa generalmente en la exposición de los dípteros a diferentes concentraciones de insecticidas por un período determinado de tiempo, los resultados se analizan mediante la concentración letal 50%. Se determinan los índices de resistencia obteniendo la  $CL_{50}$  a los 60 minutos de lectura del ensayo de una población de moscas de campo entre la  $CL_{50}$  de una población de mosca susceptible de laboratorio y se mide como Índice de resistencia (IR) y esta técnica sirve solo para comparar y determinar cambios toxicológicos de una población de moscas en el campo (Sheppard y Hinkle, 1987).

El diagnóstico de resistencia en la mosca del cuerno se realiza in situ mediante la técnica de residuos de insecticidas en papel filtro utilizando insecticidas en grado reactivo, de los piretroides: permetrina, deltametrina, cipermetrina y organofosforados: diazinon y clorfenvinfos. Esta técnica consiste en la exposición de moscas adultas en papel filtro impregnados con distintas concentraciones de los insecticidas colocados en cajas petri a diferentes intervalos de tiempo, se determinó la mortalidad y sus porcentajes fueron analizados mediante la metodología PROBIT para determinar la Concentración Letal ( $CL_{50}$ ,  $CL_{90}$ ,  $CL_{99}$ ). (Osorio, *et al.*, 2003).

Para realizar la prueba de resistencia se usaron productos de principios técnicos con los siguientes insecticidas: cipermetrina, deltametrina y permetrina de los piretroides; diazinon y clorfenvinfos de los organofosforados como se presenta en el Cuadro 1.

En el Cuadro 2 se indica la  $CL_{50}$  de los organofosforados y piretroides que se utilizaron para determinar los IR de la cepa susceptible de moscas.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

A partir de estas concentraciones y de las dosis establecidas por CENAPA se han venido aplicando diagnósticos de susceptibilidad en la mosca del cuerno en varios estados de la república mexicana. Martínez en el 2007 reporta resistencia a los piretroides (deltametrina, cypermotrina, permetrina) y susceptibilidad a los organofosforados (chlorphiriphos y dÍazinon), en 39 municipios de 11 estados de México esto se presenta en el cuadro 3. A partir de esto se monitorea las poblaciones de campo de mosca del cuerno se monitorean muy poco a menos que sea un problema muy serio en los ranchos. Se observa en el presente cuadro los Índices de Resistencia (I.R) en cada uno de los estados los cuales son muy variados para los piretroides, las poblaciones de mosca del cuerno son resistentes a la cypermotrina, permetrina y deltametrina y hay incluso ranchos en donde las moscas no se mueren al aplicar el kits de resistencia. Los I.R más altos los encontramos con deltametrina. En lo que respecta a los organofosforados el panorama cambia la gran mayoría de los estados son susceptibles a esta familia, diazinon solo expresa resistencia en Veracruz y Tabasco los demás estados son susceptibles y con clorfenvinfos solo en Veracruz hay resistencia

Unas de las actividades fundamentales del CENAPA es la evolución biológica de mosquicidas a través de la Norma Oficial 006 ZOO 1993. Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y métodos de prueba. La presente Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer los métodos de prueba y los parámetros de efectividad biológica que deben cumplir los productos ixodicidas para uso en bovinos así como los productos mosquicidas de uso pecuario, en cuya formulación se utiliza un principio activo y deberán sujetarse a lo establecido en la presente Norma. Los productos mosquicidas de uso pecuario, deberán cumplir con un 80% de control o efectividad de acuerdo a la familia química que se esté evaluando. Cabe mencionar que las lecturas de conteos de mosca son en diferentes intervalos de tiempo y esto se establece en un protocolo de trabajo. En el Cuadro 4 se observan la efectividad global de las pruebas evaluadas por el Departamento de Ectoparásitos y Dípteros del CENAPA – SENASICA en estos últimos años.

Para mosquicidas las pruebas son básicamente de campo, en el caso de mosca del cuerno y deben de cumplir con dos requisitos básicamente; que los animales presenten infestaciones de mosca del cuerno de 100 por animal por lado, ya sea izquierda o derecha en grupos de 10 a 15 animales. Y que el grupo testigo el cual no recibirá tratamiento alguno y que debe tener la misma cantidad de animales e infestación, se situó a una distancia de por lo menos un kilómetro.

### CONCLUSION

La aplicación de modelos o método de control estratégico aplicados a poblaciones de moscas en las diferentes explotaciones pecuarias permiten disminuir las infestaciones a niveles que resulten óptimos para la producción ganadera, así mismo el contar con técnicas de diagnóstico de resistencia, apoyan al control químico ya que cada rancho es diferente la respuesta toxicológica y por lo tanto los tratamiento son diferentes, esto permite seleccionar el producto adecuado y alargar la vida útil del mismo siempre y cuando se aplique con las instrucciones adecuadas, estos pasos ayudaran a retardar la aparición de resistencia en las poblaciones de campo.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

La identificación taxonómica de insectos es fundamental para conocer la biología y comportamiento de cada uno de los dípteros presentes en un rancho, cada mosca posee un ciclo de vida independiente así como su hospedero y medio ambiente, con base en ello el manejo del problema debe ser integral para disminuir las infestaciones en las diferentes regiones ganaderas.

La aplicación de los insecticidas debería de darse bajo sugerencias técnicas enfocadas a umbrales poblacionales y/o económicos por parte de personal especializado, así como, brindar asesorías a los productores de ganado para prevención y control de la resistencia en los diversos dípteros presentes en los ranchos. Los bioreguladores del crecimiento aplicados como larvicidas son muy buenos para controlar las moscas en estiércol, hay que aprovechar estos productos para aplicarlos estratégicamente y utilizarlos en los picos de mayor infestación de moscas.

### Referencias bibliográficas

- Abbott WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 165-267
- Aguirre, H.D., Anziani, S.O y Guglielmono, A.A. 1986. Susceptibilidad a la cipermetrina de poblaciones de *Haematobia irritans* en el área central de Argentina. III Seminario Internacional de Parasitología Animal. Resistencia y control en garrapatas y moscas de importancia veterinaria. Acapulco, Guerrero, México p 150.
- Aldana, LL.L., Valdez, E.M.E y Morales, S:M. 1997 Variación poblacional de la mosca del establo en Yautepec, Morelos. IV Congreso Nacional de Parasitología Animal Guadalajara, Jalisco, México. 74
- CONASA 1993. Comité de Enfermedades Parasitarias. Importancia zoonosológica y económica de la mosca del cuerno *Haematobia irritans* en México. Memorias de la Segunda Reunión Anual del Consejo Técnico Consultivo Nacional de Sanidad Animal. México D.F. pp 367-378.
- Cruz, V.C., Bautista, H.J., Vitela, M.I y Quintero M.T. 1998 Dinámica poblacional de *Haematobia irritans* en ganado lechero estabulado en Aguascalientes, en un año. XXII Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco, Guerrero; México. 83
- Cruz, V.C., Vitela, M.I., Ramos, P.M., García, V.Z y Quintero M.T. 1999 Rasgos básicos de la infestación por moscas *Stomoxys calcitrans* y *Haematobia irritans* en ganado lechero de Aguascalientes. Control de la resistencia en Garrapatas y Moscas de importancia veterinarias y enfermedades que se transmiten. Puerto Vallarta, Jalisco, México. 183- 188
- Franco, B.R., Ortiz, E.M., Osorio, M.J. 1997. Eficacia de la Doramectina contra la mosca del cuerno *Haematobia irritans* (Diptera:Muscidae) en pruebas de campo y laboratorio. IV Congreso Nacional de Parasitología. Guadalajara, Jalisco.
- Kunz, S.E. and Schmidt, D.Ch. 1978. *Haematobia irritans*. Handbook of insect rearing 2: 113 117
- Kunz, S.E. 1991. Epidemiology of the more important flies of cattle in Mexico. II Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten. Oaxtepec, Morelos, México. pp 105-110.
- Kunz, S.E., Ortiz, E.M., Fragoso, S.H. 1995. Status of *Haematobia irritans* (Diptera:Muscidae) insecticide resistance in northeastern Mexico. J. Med. Entomol. 32 (5): 726-729.
- NORMA OFICIAL MEXICANA 006 ZOO 1993. Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y métodos de prueba.
- Martínez I.F., Castro A.J.I., Giles H.I., Cruz A.S., Fragosos S.H., Ortiz N.A., Osorio M.J. 2006. Evaluación cinética en plasma de dos ivermectinas al 1% y su actividad biológica sobre la fase



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- no parasítica de la mosca *Haematobia irritans*. (Diptera:Muscidae). Memorias XXX Congreso Nacional de Buiatria. Acapulco Gro., México. Pag.150.
- Martínez I.F. 2007. Índices de Resistencia en la mosca del cuerno *Haematobia irritans*. (Diptera:Muscidae) en 11 estados de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Osorio, M.J., Martínez I.F. y Ortiz, N.A. 2003 Procedimiento para la determinación de susceptibilidad a insecticidas en la mosca del cuerno *Haematobia irritans* mediante la técnica de residuos insecticidas en papel filtro. Laboratorio de Ectoparásitos y Dípteros. CENAPA, SENASICA-SAGARPA.
- Romano, A., Greco, J. Doti, F., Vogel, A y Alberdi, J. 1991 La mosca de los cuernos *Haematobia irritans* (Linneus 1758). Un serio peligro que amenaza la ganadería Argentina. Veterinaria Argentina 8:80
- Romano A. 1991. La mosca de los cuernos (*H. irritans*) un serio peligro que amenaza nuestra ganadería. Clínica y Producción Veterinaria 4: 8-10
- Santamaría, V.M., Ortiz, E.M., Franco, B.R., Fragoso, S.H y Osorio, M.J. 1995. Evaluación biológica de mosquicidas para el control de *Haematobia irritans* en México y situación actual de la resistencia. III Seminario internacional de parasitología animal. Resistencia y control en garrapatas y moscas de importancia veterinaria. Acapulco, Guerrero, México. pp 119-123.
- Sheppard, C.D and Marchiondo, A.A. 1987. Toxicidad del diazinon hacia la mosca del cuerno *Haematobia irritans* (L) susceptibles y resistente a los piretroides: Estudio de laboratorio y ensayos de campo. J. Agric. Entomol. 4:3 262-270.
- Sheppard, C.D., Hinkle, C.N. 1987 A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. J. Agric. Entomol. 4 (1): 87-89
- Schmidt D,Ch and Kunz E,S. 1978. *Haematobia irritans*. Handbook of Insect Rearing 2: 113-117
- Williams E.R., Hall D.R., Broce B.A. and Scholl J.L. 1985. Livestock Entomology John Wiley & Sons. 335.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 1. Porcentajes de los principios técnicos de los insecticidas utilizados en los ensayos de resistencia.

Grupo Toxicológico	Ingrediente activo	Pureza (%)
Piretroides	Cipermetrina	92.0 %
	Deltametrina	98.0 %
	Permetrina	93.4 %
Organofosforados	Diazinon	95.4 %
	Clorfenvinfos	93.0 %

Cuadro 2. Concentración Letal<sub>50</sub> de organofosforados y piretroides de una cepa susceptible de *Haematobia irritans*.

Grupo Toxicológico	Ingrediente activo	CL <sub>50</sub> (µg/cm <sup>2</sup> )
Piretroides	Cypermetrina	0.30
	Deltametrina	0.0016
	Permetrina	0.04
Organofosforados	Diazinon	0.12
	Clorfenvinfos	0.8

Cuadro 3. Determinación de los Índices de Resistencia (I.R) en la mosca del cuerno *Haematobia irritans* a piretroides y organofosforados en 11 estados de México.

ESTADO	PIRETROIDES			ORGANOFOSFORADOS	
	Cipermetrina	Permetrina	Deltametrina	Diazinon	Clorfenvinfos
Sinaloa	18.25	29.02	3308.43	0.0	M/I
Veracruz	N.D.	N.D.	103934.37	4.0	29.07
	1521.29	1058.75	23692.18	1.3	1.7
	35.64	131.01	520.00	0.0	1.6
	2.45	24.63	M/I	0.0	1.5
	18	17.88	M/I	0.1	0.0
	19.74	15.88	M/I	0.0	0.0
	M/I	8.1	M/I	0.0	0.01



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Tamaulipas	42.55	146.32	287.50	0.0	M/I
	8.80	M/I	M/I	M/I	M/I
	6.02	86.60	M/I	M/I	M/I
	N.D.	11.35	22542.81	0.0	0.0
	24.86	323.99	55.93	0.0	0.0
	0.87	M/I	M/I	M/I	M/I
Tabasco	0.21	8.00	M/I	8.9	M/I
	0.19	45.05	M/I	2.3	M/I
Nuevo León	30.86	31.78	76.00	0.0	0.85
	19.77	29.52	62.18	M/I	M/I
	19.47	22.83	45	M/I	M/I
	0.01	19.24	40	M/I	M/I
	0.21	5.6	10.31	M/I	M/I
Chiapas	17.94	40.36	980.62	M/I	M/I
	17.54	30.93	50.00	M/I	M/I
	6.24	26.10	M/I	M/I	M/I
Nayarit	N.D.	25.12	0.12	0.0	0.0
Morelos	0.0	8.3	10.93	0.0	0.0
	0.0	2.07	6.87	0.0	0.0
	0.0	1.06	M/I	0.0	0.0
	1.21	2.53	37.18	0.0	0.0
	N.D.	N.D.	N.D.	0.0	0.0
	M/I	M/I	N.D.	0.0	0.0
	64.65	123.11	62.81	0.0	0.0
	N.D.	N.D.	N.D.	0.0	0.0
	2.88	142.97	55	0.0	0.0
	42.24	16.17	M/I	0.0	0.0
Colima	0.67	28.41	456.56	0.0	0.0
	M/I	0.75	M/I	M/I	0.0
Jalisco	3.27	1.44	M/I	0.9	1.1
Campeche	1.46	1033.97	146.25	0.0	0.0

N.D.= Resistencia no determinada; debido a que las moscas se mantuvieron vivas en todas las concentraciones, después de una hora de exposición al insecticida.

M/I = Muestra insuficiente.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 4. Productos evaluados por CENAPA, en diferentes partes de México bajo condiciones de campo para determinar la efectividad biológica como mosquicidas en *Haematobia irritans*.

Mosquicida	Presentación	Días	% Efectividad
Ethion	Un Arete	154	80.95
Ethion	Dos aretes	154	90.19
Diazinon	Un Arete	168	92.23
Diazinon	Dos Aretes	135	95.27
Diazinon	Dos Aretes	107	79.48
Permetrina 3%	Epicutaneo	14	62.15
Fipronil 1%	Epicutaneo	30	85.52
Permetrina 20%	Epicutaneo	21	92.48
Ivermectina	Epicutaneo	35	84.23
Permetrina + Butoxido de Piperonilo	Epicutaneo	19	80.76
Ethion + Cypermetrina	Epicutaneo	15	87.18
Abamectina 8% + Butoxido de Piperonilo	Un Arete	112	80.30
	Dos Aretes		87.57
Diazinon 30% + Chlorpiriphos 10%	Un Arete	99	86.75



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO ALGUNAS PARASITOSIS DESDE EL ENFOQUE DE “UNA SALUD”

### ZONOSIS PARASITARIAS DESDE EL ENFOQUE DE “UNA SALUD” EN EL ÁMBITO EDUCATIVO.

Juan José Zárate Ramos

Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Campus de Ciencias Agropecuarias, Ex Hacienda, El Canadá Escobedo, Nuevo León, México C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.  
[juan.zaraterm@uanl.edu.mx](mailto:juan.zaraterm@uanl.edu.mx)

Introducción.

Desde tiempos inmemoriales, la salud y el bienestar de los seres humanos han estado íntimamente ligada a la salud de los animales y a la del planeta que comparten. La interdependencia entre los seres humanos, animales y su medio ambiente, son la base de “Una Salud” (Evans B.R. y F.A. Leighton., 2014).

Han sido muchos los esfuerzos por equilibrar la conciencia colectiva respecto de la importancia del cuidado de la salud humana, la salud animal y la del medio ambiente, así como también se ha despertado el interés por mejorar la comprensión de las interrelaciones entre ellas, dicha preocupación que ha quedado perfectamente englobada en la promoción del concepto de “Una Salud”.

“Una Salud”.

Recientemente el interés por fomentar el concepto de “Una Salud”, ha aumentado rápidamente, que originalmente surgió como “Una Medicina” y más tarde se denominó “Una Salud”, sin embargo esté no es un concepto nuevo, la relevancia de la interdependencia de estas relaciones ha sido tema de estudio desde las antiguas civilizaciones y más recientemente por destacados personajes a lo largo de la historia de las ciencias médicas (Osburn, *et al.*, 2009) como por ejemplo el médico y patólogo alemán Rudolf Virchow (1821-1902) considerado “el padre de la patología moderna”, pionero en el concepto de la “Teoría Celular”, acuñó el término “zoonosis” y una de sus frases célebres es “*Entre la Medicina Animal y Humana no hay una línea divisoria, ni debe haberla, el objeto es diferente, pero la experiencia de aprendizaje obtenida constituye la base de toda la Medicina*” (Kan *et al.*, 2007).

El médico canadiense Sir William Osler (1849-1919), discípulo de Virchow, promovió los conceptos de medicina comparada y biología comparada y la integración de la salud humana y animal a través de su concurrencia en la facultad de veterinaria y la facultad de medicina en la Universidad McGill, en Montreal. A menudo es referido como el padre de la medicina moderna. (Sunders, L.Z. 1987, Smithcors, J.F. 1963).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

DVM. Daniel Salmon (1850-1914) es el primer médico veterinario de los estados unidos en obtener el grado de Doctor por la Universidad de Cornell; en 1883 se le pidió que estableciera una división veterinaria dentro del Departamento de agricultura de los EUA, que posteriormente se convertiría en el Bureau of Animal Industry (BAI) y se desempeñó como su jefe desde 1884 hasta el 1 de diciembre de 1905, esta oficina en el periodo del Dr. Salmon logró la erradicación de la perineumonía contagiosa bovina, se estudió y controló la fiebre de Texas (Babesiosis), estableció el programa de inspección de carne, comenzó a inspeccionar el ganado exportado y los barcos que los transportaban, comenzó a inspeccionar y poner en cuarentena ganado importado, y estudió el efecto de las enfermedades animales en la salud pública, el género *Salmonella* lleva su nombre en honor a él, además fomentó el trabajo multidisciplinario entre profesionistas de la salud (Dunlop, R.H. y Williams, D.J. 1996).

El médico estadounidense Theobald Smith (1859-1934) fue un epidemiólogo y patólogo pionero, es reconocido como uno de los primeros científicos e investigadores médicos de los EUA, trabajo bajo las órdenes del Dr. Salomon en la Oficina de Industria Animal (BAI), se desempeñó como profesor de patología comparada en la Universidad de Harvard y dirigió el laboratorio de patología en la oficina de salud del Estado de Massachusetts (Brown, J.H., 1935)

Karl Friedrich Meyer (1884-1974) científico de origen suizo, estudió biología y posteriormente un doctorado en Medicina Veterinaria por la de Universidad de Zurich, reconocido como uno de los científicos más prodigiosos del siglo XX, en áreas como las enfermedades infecciosas tanto humanas como de los animales, la ecología de los agentes patógenos, la epidemiología y la salud pública, algunos autores lo llamaron el "Luis Pasteur del siglo XX", estudió entre otras enfermedades el Ántrax, Brucelosis, Botulismo, Encefalitis equina, Fiebre Amarilla, Influenza, Peste Bubónica, Psitacosis, Leptospirosis. "(Kan *et al.*, 2007).

James H. Steele (1913-2013) médico veterinario estadounidense, quien en 1947 estableció la unidad de salud pública veterinaria, que daría lugar a los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades en los Estados Unidos (CDC), ayudó a establecer la educación de posgrado en salud pública como una nueva especialidad veterinaria. Sus contribuciones respecto de las enfermedades Zoonóticas condujeron a la creación de una unidad de salud pública veterinaria, por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) por ello es considerado como el padre de la Salud Pública Veterinaria (Schultz, M.G., 2014).

Calvin Schwabe (1927-2006) Epidemiólogo veterinario y parasitólogo de los Estados Unidos estableció un programa pionero en medicina veterinaria preventiva en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de California en Davis y en 1964, publicó el libro de texto "Medicina Veterinaria y Salud Humana", en el que se enfatiza la integración entre la salud animal, humana y ambiental en la gestión de los asuntos veterinarios y de salud pública. En su libro se refirió a la importancia de "una medicina" y dijo que "las necesidades críticas del hombre incluyen el combate a las enfermedades, asegurar suficiente alimento, calidad ambiental adecuada y una sociedad en la que prevalecen los valores humanos" así como también aseveró que "La medicina veterinaria es el campo de estudio relacionado con las enfermedades y la salud de los animales no humanos" (Saunders, L.Z., 1987., Schwabe, C.W., 1984).

En los últimos años, el concepto "Una Salud" se ha utilizado ampliamente para describir aquellas prácticas que apoyan las colaboraciones transdisciplinarias que involucran la salud animal, humana





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

y del medio ambiente (Stephen y Karesh, 2014). Se han desarrollado varias iniciativas a nivel internacional, como el concepto tripartita de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), que pretende compartir responsabilidades y coordinar actividades globales para abordar los riesgos para la salud en la interfaz animal-humano-ecosistemas. (FAO-OIE-OMS, 2010). Sin embargo, algunos aspectos de la integración e implementación del concepto “Una Salud”, siguen siendo un desafío.

### El paraguas de “Una Salud” y las Geohelmintiasis

En el paraguas de “Una Salud”, subyacen prácticamente todas las disciplinas del área de la salud, incluida la parasitología particularmente las zoonosis parasitarias, muchas de estas incluidas en las llamadas Enfermedades Infecciosas Desatendidas (EID) dentro de estas se destacan las geohelmintiasis, que por sus características de endemidad y por su cotidianidad ya no causan alarma en los sistemas de salud, sobre todo porque se presentan en países subdesarrollados (Feasey, N. 2010). En muchos casos estas enfermedades ocurren en sitios aislados, son asintomáticas o con signos inespecíficos, con periodos de incubación largos, por lo que cuando ocurren los decesos, resulta difícil establecer la conexión entre el agente etológico y la enfermedad (Fenwick, A. 2012., Hotez, *et al.*, 2006). Por otro lado, para la mayoría de estas enfermedades hay poco interés económico por parte de la industria farmacéutica (Trouiller, *et al.*, 2002). La Organización Panamericana de la Salud (OPS) y Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2014, estimaron que 46 millones de niños de la Región de las Américas, corrían el riesgo de contraer geohelmintiasis; y 58% de ellos viven en tres países (Brasil, Colombia y México) de los 24 afectados, además un punto a destacar es que no se consideraron las geohelmintiasis de origen zoonóticos como la Toxocariosis (OMS., 2015). Estas organizaciones y otras más han reconocido el papel fundamental de la promoción del concepto de “Una Salud” para afrontar de mejor manera los retos a los que se enfrenta la humanidad (FAO-OIE-OMS, 2010, a, b, c). Según la Organización de las Naciones Unidas, la medicina veterinaria tiene una importancia cada vez mayor en la salud global (Kelly *et al.*, 2013).

### “Una Salud” en la Educación Veterinaria.

Mientras que, en la parte educativa, se ha detectado que existe la necesidad de lograr un mayor grado de armonización en la enseñanza de la veterinaria y la medicina (El Sheikh, 2009). Sin lugar a dudas la transversalidad del concepto de “Una Salud” en la educación veterinaria es fundamental en el año 2007, la Asociación de Escuelas de Salud Pública (ASPH) y la Asociación Facultades de Medicina Veterinaria de los Estados Unidos (AAVMC) realizaron una reunión en el cual entre otras cosas, analizaron la orientación futura de las escuelas de Salud Pública y Facultades de Medicina Veterinaria, destacando la necesidad de incluir el tema de “Una Salud” (Pappaioanou, M y Spencer, H. 2008).

Es claro que la preocupación por atender la problemática en salud global e incluir el concepto de “Una Salud” en el área de la educación médica, y particularmente en los programas de Medicina Veterinaria también en el año 2007, la American Veterinary Medical Association (AVMA) junto con Organización Panamericana de la Salud (OPS) presentaron el documento titulado “Conceptualización del futuro de la profesión médico veterinaria” (Maccabe, *et al.*, 2008). La Sociedad Interamericana de Salud Pública Veterinaria (SISPVET) en el año 2009, durante la



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Conferencia Mundial de Salud Pública Veterinaria y III Congreso Brasileiro de Salud Pública Veterinaria, celebrado en la Ciudad de Bonito, en Brasil, emitió la siguiente declaratoria “No puede haber salud humana si no hay salud animal, y ambas no pueden existir si el ambiente no es saludable, si está deteriorado, si no es sustentable” (Villamil-Jiménez, 2010), en este mismo orden de ideas en el año 2012, la Organización Mundial de Salud Animal (OIE) publicó las “Recomendaciones de la OIE sobre las competencias mínimas que se esperan de los veterinarios recién licenciados para garantizar Servicios Veterinarios Nacionales de Calidad”. Por su parte la Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias (PANVET), el Consejo Panamericano de Educación Veterinaria (COPEVET) y la (FAO) publicaron en 2012, el documento “Competencias Profesionales en Medicina Veterinaria” (Taylor, 2012) y en 2013 publican el “Perfil Profesional del Médico Veterinario en Latinoamérica, visión al 2030” (Taylor, 2013), en el primer documento se establecen las competencias profesionales del MVZ, dichas competencias están en concordancia con las áreas que se entran incluidas bajo el paraguas de “Una Salud”, en el segundo documento de igual forma se consideran las áreas de formación que resultan más pertinentes para la formación del MVZ para lograr los perfiles profesionales del Médico Veterinario en Latinoamérica con una visión al 2030 y de manera coetánea dichas áreas de formación son afines a las consideradas en “Una Salud”. Los planes de estudios de médicos y veterinarios, deberían tener por objetivo asegurar que en todas las etapas de la enseñanza preclínica y clínica, se aproveche al máximo la posibilidad de incorporar las experiencias fructíferas y de éxito de aplicación del concepto de “Una Salud”. Ello garantizará que se pueda seguir progresando, y que en el futuro haya una cultura científica más extendida y prospectiva que fundamente la mejor promoción del concepto de “Una Salud” (McConnell., 2014). Por ello es que sería pertinente proponer por ejemplo, que los temas de Parasitología Médica y Parasitología Veterinaria se abordara desde la óptica de “Una Salud” con énfasis en las zoonosis parasitarias, temas tales como la Toxocariosis, Ancylostomosis, Dirofilariosis, Strongyloidosis, Leishmaniosis por mencionar algunas y considerar en ello, la enfermedad que estos causan en el animal, en el humano y cual es la participación del medio ambiente para presentación de estas.

El ejemplo de la Toxicariosis desde el enfoque de “Una Salud”.

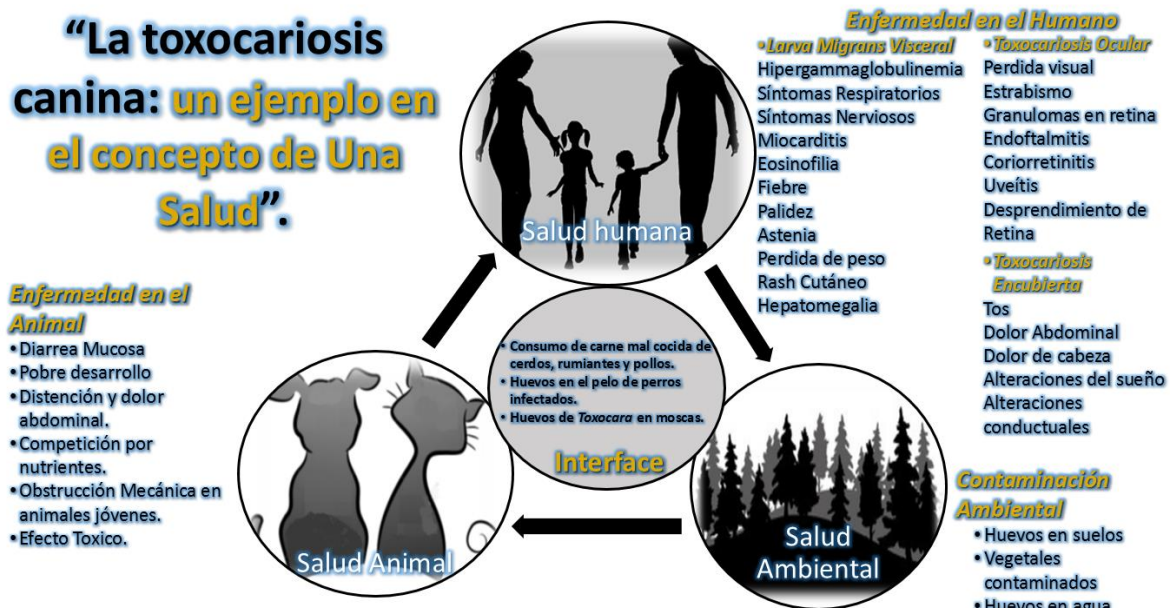
Este parásito posee varias características biológicas que incrementan su éxito para perpetuarse en la naturaleza, además dichas características lo convierten en un excelente ejemplo para el análisis desde la perspectiva de “Una Salud”. Así como también la enfermedad causada por este, es considerada como enfermedad tropical desatendida (Fakhri, *et al.*, 2018), dentro de sus características esta su amplia distribución geográfica (Schnieder, *et al.*, 20011), otra es la gran prolificidad de las hembras que producen hasta 200,000 huevos diarios (Glickman, L.T. y Schantz, P.M. 1981), sus huevos son sumamente resistentes al medio ambiente en el que pueden sobrevivir por semanas e incluso años (Azam, *et al.*, 2012). Los huevos de *Toxocara* excretados en las heces de huéspedes definitivos completan su maduración en el medio ambiente en condiciones adecuadas, tiene la capacidad de infectar a numerosos hospederos paraténicos en los que no se desarrolla la forma adulta, pero permanece infectivo en ellos convirtiéndolos en fuente de infección para otros animales. De este género se han descrito más de 24 especies distribuidas en todo el mundo y que tienen como hospederos definitivos diferentes especies animales. (De la Fé Rodríguez, *et al.*, 2006). En su huésped natural posee múltiples formas de transmisión como por ejemplo la ingestión directa de huevos, la ingestión de paraténicos o de sus tejidos, la transmisión transparentaría y la lactogénica (Worren., 1969).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Los seres humanos se consideran los huéspedes paraténicos es un huésped accidental y la infección se produciría por ingestión de carne poco cocida de los huéspedes paraténicos infectados como (pollos, cerdos y rumiantes entre otros), agua contaminada, suelo contaminado (parques infantiles, parques, jardines, cajas de arena) y por el contacto cercano con animales también son fuente de infección (Maleki, 2018). Infección por *Toxocara* en los humanos pueden causar una variedad de problemas y complicaciones clínicas, que incluyen tos, mialgia, asma, alergias cutáneas, enfermedad cardíaca, ceguera, meningitis, vasculitis cerebral, encefalitis y también trastornos neurodegenerativos como convulsiones, demencia y déficit cognitivos (Aghaei et al., 2018; Kuenzli et al., 2016; Ma et al., 2018).

### “La toxocariosis canina: un ejemplo en el concepto de Una Salud”.



Esquema de la Toxocariosis desde el enfoque de “Una Salud”.

#### Referencias bibliográficas

- Aghaei, S., Riahi, S.M., Rostami, A., Mohammadzadeh, I., Javanian, M., Tohidi, E., Foroutan, M. y Dooki M.E. (2018). *Toxocara* spp. infection and risk of childhood asthma: a systematic review and meta-analysis. *Acta Trop.* 182, 298e304.
- Azam, D., Ukpai, O.M., Said, A., Abd-Allah, G. A. y Morgan, E.R. (2012) Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitol. Res.*, 110(2012), pp.649-656.
- Brown J. H. (1935). Theobald Smith 1859-1934. *Journal of bacteriology*, 30(1), 1–3.
- De la Fé Rodríguez, D., Duménigo Ripoll, D., Brito Alberto, D., y Aguiar Sotelo, D. (2006). *Toxocara canis* y Síndrome Larva Migrans Visceralis (*Toxocara canis* and Syndrome Larva Migrans Visceralis). *Revista Electrónica De Veterinaria REDVET*, 7(4). Retrieved September 18, 2015, from: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Dunlop R.H. y Williams D.J. 1996. *Veterinary medicine: an illustrated history*. Mosby, New York, 704 pp.
- El Sheikh, S. (2009) Conferencia Ministerial Internacional sobre la Influenza Aviar Bull-ESP2009-1: boletín INT 3/4/09 13:25, pag. 52
- Evans, B.R. y Leighton, F.A.. (2014), A history of One Health, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 33 (2), 413-420.
- Fakhri, Y., Gasser R.B., Rostami, A., Fan, C.K., Ghasemi, S.M., Bayani, M., Armoon, B. y Moradi, B. (2018) Toxocara eggs in public places worldwide - A systematic review and meta-analysis. *Environmental Pollution* 242: 1467e1475.
- FAO Media Centre (2010a). Improved disease prevention in animal health could save billions of dollars; One Health approach to more efficiently combat new pathogens is gaining strength. <http://www.fao.org/news/story/en/item/44327/icode/%3E>, último acceso 10 junio 2019.
- FAO-OIE-WHO (2010b). A Tripartite Concept Note – Sharing responsibilities and coordinating global activities to address health risks at the animal-human-ecosystems interfaces - The FAO-OIEWHO Collaboration.
- FAO-OIE-WHO (2010c). [http://www.oie.int/download/FINAL\\_CONCEPT\\_NOTE\\_Hanoi.pdf](http://www.oie.int/download/FINAL_CONCEPT_NOTE_Hanoi.pdf).
- FAO-OIE-WHO, (2010). The FAO-OIE-WHO Collaboration. Sharing responsibilities and coordinating global activities to address health risks at the animal-humanecosystems interfaces. A Tripartite Concept Note. In: Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO), W.O.f.A.H.O.W.H.O.W. (Ed.).
- Feasey N, Wansbrough-Jones M, Mabey DC, & A.W. Solomon (2010). "Neglected tropical diseases". *Br. Med. Bull.* 93 (1): 179–200.
- Fenwick, A. (2012). "The global burden of neglected tropical diseases". *Public Health.* 126 (3): 233–236.
- Glickman, L.T. y Schantz, P.M. (1981) Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis, *Epidemiol. Rev.*, 3: 230-250
- Hotez, P., Ottesen, E., Fenwick, A. y Molyneux, D. (2006). The neglected tropical diseases: the ancient afflictions of stigma and poverty and the prospects for their control and elimination. *Adv. Exp. Med. Biol.* 582. pp. 23–33.
- Kahn L.H., Kaplan B. y Steele J.H. (2007). – Confronting zoonoses through closer collaboration between medicine and veterinary medicine (as 'one medicine'). *Vet. Ital.* 43 (1), 5-19.
- Kelly, A, Ferguson J, Galligan D, Salman M, y Osburn B. (2013) One health, food security, and veterinary medicine. *J Am Vet Med Assoc*; 242: 739–43.
- Kuenzli, E., Neumayr, A., Chaney, M. y Blum, J. (2016). Toxocariasis-associated cardiac diseases: a systematic review of the literature. *Acta Trop.* 154, 107e120.
- Ma, G., Holland, C.V., Wang, T., Hofmann, A., Fan, C.-K., Maizels, R.M., Hotez, P.J. y Gasser, R.B. (2018). Human toxocariasis. *Lancet Infect. Dis.* 18, 14e24.
- Maccabe, A, Matchett, K, y Hueston, W. The need for public-health veterinarians as seen by future employers. *J Vet Med Education.* 2008; 35(2):269–74.
- McConnell, I. (2014) One Health in the context of medical and veterinary education. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2014, 33 (2), 651-657.
- OMS (2015) Soil-transmitted helminthiasis: number of children treated in 2014. *Weekly Epidemiological Record*; 90(51/52):705-711. Disponible en: [https://www.who.int/wer/2015/wer9051\\_52.pdf?ua=1](https://www.who.int/wer/2015/wer9051_52.pdf?ua=1)
- Osburn, B., Scott, C y Gibbs, P. (2009). One World – One Medicine – One Health: emerging veterinary challenges and opportunities *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 28 (2), 481-486.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Pappaioanou, M y Spencer, H. (2008) "One Health" Initiative and ASPH", *Public Health Rep.* 123(3): 261.
- Saunders L.Z. (1987). From Osler to Olafson. The evolution of veterinary pathology in North America. *Can J Vet Res*, 51 (1), 1-26.
- Saunders L.Z. (1987). From Osler to Olafson. The evolution of veterinary pathology in North America. *Can J Vet Res*, 51 (1), 1-26.
- Schnieder, T., Laabs, E.M. y Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Vet.Parasitol.* 175: 193–206
- Schultz, M. G. (2014). In memoriam: James Harlan Steele (1913-2013). *Emerg. Infect. Dis.* 20 (3), 514–515.
- Schwabe, C.W. (1984). *Veterinary medicine and human health*, 3rd Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 680 pp
- Smithcors, J.F. 1963. *The American veterinary profession: its background and development*. Iowa State University Press, Ames, 704 pp.
- Stephen, C. y Karesh, W.B. (2014). Is one health delivering results? *Introduction. Rev. Sci. Tech.* 33, 375–392.
- Taylor P, J.J. "Competencias Profesionales en Medicina Veterinaria", (2012). Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias (PANVET), el Consejo Panamericano de Educación Veterinaria (COPEVET) la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (FAO). pp:1-153.
- Taylor P, J.J. "Perfil Profesional del Médico Veterinario en Latinoamérica, visión al 2030" (2013). Asociación Panamericana de Ciencias Veterinarias (PANVET), el Consejo Panamericano de Educación Veterinaria (COPEVET) la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (FAO). pp: 1-79.
- Trouiller P, Olliaro P, Torreele E, Orbinski J, Laing R, y Ford,N. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *Lancet.* 2002; 22; 359(9324):2188–94
- Trouiller, P., Olliaro, P., Torreele, E., Orbinski, J., Laing, R. y Ford, N. (2002). "Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure". *Lancet.* 359 (9324): 2188–2194.
- Villamil Jiménez, L.C. (2010). Un mundo, una salud y los objetivos de desarrollo del milenio (ODM): retos y perspectivas de la salud pública. *Una Salud. Revista Sapuvet de Salud Pública*, (1): 21-39.
- Warren, E.G. (1969) Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. *Parasitology.* 1969 Nov; 59(4):837-41.
- Malekia, B., Khorshidib, A., Gorgipoura, M., Mirzapourc, A., Majidiana, H., y Foroutan, M. (2018). Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in soil of public areas in Iran: Asystematic review and meta-analysis. *Alexandria Journal of Medicine* 54 (2018) 97–101



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA CANINA: SITUACIÓN ACTUAL EN MÉXICO Y ESTRATEGIAS PARA SU CONTROL.

Matilde Jiménez-Coello, Antonio Ortega-Pacheco

Universidad Autónoma de Yucatán

mjcoello@tunku.uady.mx

### Introducción

La Tripanosis Americana (TA) conocida también como enfermedad de Chagas en humanos, es causada por el protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y que es principalmente transmitida por un insecto hematófago perteneciente a la subfamilia de los triatominae la cual tiene amplia distribución en todo el territorio mexicano y se extiende por todo centro y Sudamérica. Estos insectos tienen preferencias alimenticias entre otros de los perros los cuales posteriormente se vuelven reservorios del agente y juegan un papel fundamental en el ciclo de transmisión intra-domiciliaria (Gürtler et al., 1998). Para el mejor entendimiento de la transmisión vectorial, deben considerarse los hábitos de los insectos vectores los cuales son la actividad en horarios diurnos y su presencia en hogares de áreas metropolitanas (Paredes et al., 2001). Estudios epidemiológicos en perros muestran una marcada prevalencia e incidencia de casos clínicos en zonas tropicales de México. La Península de Yucatán es considerada como zona endémica debido a la presencia natural del vector (insectos Hemiptera: Reduviidae: Triatominae, principalmente *Triatoma dimidiata*) en el ecosistema de la región. La enfermedad en perros cursa por un cuadro agudo de cardiopatía, y si sobreviven quedan infectados de manera crónica mostrando los signos clínicos clásicos de las cepas circulantes en esta parte del continente, los cuales se caracterizan principalmente por insuficiencia cardíaca.

El objetivo de este manuscrito es realizar una revisión sobre la situación de la TA en perros en México y describir las mejores estrategias para su prevención y control.

### Agente causal

El agente causal de la Tripanosomiasis Americana es el protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (Weese et al., 2011; Taylor et al., 2016). Este es un parásito que pertenece al phylum *Euglenozoa*, clase *Kinetoplasta*, orden *Trypanosomatida*, familia *Trypanosomatidae*, género *Trypanosomae*, y también es conocido como *Schizotrypanum cruzi*, *Trypanosoma lesourdi*, *Trypanosoma rhesii*, *Trypanosoma prowazeki*, *Trypanosoma vickersae* (Taylor et al., 2016) .

Durante su ciclo vital, *T. cruzi* presenta tres estadíos: El trypomastigote, que a su vez se divide en dos categorías; el metacíclico o etapa infectiva en que el vector lo deposita en sus heces sobre el hospedero y trypomastogote sanguíneo, cuando éste se disemina vía la sangre del hospedero. Los amastigotes, que son estados quísticos y carentes de flagelo, que se depositan en los tejidos de los órganos blanco para multiplicarse. El tercer estadío es el epimastogote, forma en que se reproduce en el tracto digestivo del vector (Weese et al., 2011).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Debido a su variabilidad genética y la relación de ésta con la patogenicidad y sus características eco-epidemiológicas, la comunidad científica se ha dado a la tarea de homogenizar criterios para tipificar las cepas de *T. cruzi*, con el fin de tener las herramientas para un mejor entendimiento del parásito y su epidemiología con mira al control de la enfermedad (Zingales et al., 2012). Para lo cual, se han identificado marcadores o “etiquetas” moleculares a través de los cuales se le clasifica en 6 unidades de tipificación discreta o DTUs (por sus siglas en inglés), conocidos como Tc y numerados del I al VI (Zingales et al., 2009). A su vez el TcI tiene cinco genotipos denominados TcIa, TcIb, TcIc, TcId y TcIe (Ramírez et al., 2010).

En México y Centroamérica el DTU con mayor prevalencia es TcI (Miles et al., 2009; Guhl, 2016), y se ha demostrado que es cardiotrófico y altamente patogénico (Miles et al., 2009; Espinoza et al., 2010; Guhl, 2016)

### Vectores

Los vectores transmisores del *T. cruzi* pertenecen a la familia *Reduviidae* los cuales son depredadores de otros insectos; dentro de estos, la subfamilia *Triatominae* se caracteriza por sus comportamientos hematófagos y en su mayoría poseer la capacidad de transmisión de *Trypanosoma cruzi*. La subfamilia se distribuye en todo el mundo, sin embargo, la mayor cantidad de especies se encuentra en América, India, Asia y Australia (Schofield et al. 1987; Otálora-Luna et al., 2015).

Los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Pastrongylus* se distribuyen en todo el territorio americano. Las especies reconocidas por ser potenciales transmisores de *T. cruzi* son *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, *T. sórdida*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, *Panstrongylus megistus*, *P. geniculatus*, *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *R. brethesi*, y *R. ecuadoriensis*. En Centroamérica y México *R. prolixus*, *T. dimidiata*, *T. barberi* y *R. pallascens* son las especies más abundantes (Guhl, 2009; Noireau et al., 2009; Salazar-Schettino et al., 2016).

En México, de las 31 especies de la subfamilia *Triatominae*, 19 del género *Triatoma* se han encontrado infectados naturalmente por *T. cruzi*, entre las que destacan *T. longipennis*, *T. mexicana* y *T. barberi* (Ramsey et al., 2015); también se reporta a *Meccus bassolsae*, *M. longipennis*, *M. mazzottii*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus*, *M. picturatus*, *T. gerstaeckeri*, *T. rubida*, *Dipetalogaster máxima*, *P. rufotuberculatus* y *R. prolixus* (Licón-Trillo et al., 2010; Salazar Schettino et al., 2010; Martínez-Ibarra et al., 2016), siendo *T. dimidiata* la especie más dispersa en el país y la predominante en la península de Yucatán, donde también se reporta (en el estado de Campeche) a *P. rufotuberculatus* (Salazar Schettino et al., 2010). De la primera especie (*T. dimidiata*) se han identificado en la entidad dos grupos taxonómicos y sus híbridos (Herrera-Aguilar et al., 2009)

La capacidad de dispersión del vector influye directamente sobre la transmisión de la enfermedad, a su vez tal habilidad de dispersarse depende de características anatómicas como el largo de las alas; al respecto, un estudio realizado en Yucatán encontró que las dimensiones del ala en *T. dimidiata* está influenciada por el sexo y el estatus infeccioso del vector, así pues la alas son más grandes en hembras que en machos y en individuos infectados con *T. cruzi* que en aquellos que no lo están (Nouvellet et al., 2011).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Ciclo de vida

El Triatomino se contamina con *T. cruzi* exclusivamente al alimentarse de un mamífero infectado en etapa de parasitemia, ya que no es posible la transmisión vertical. El protozoo es ingerido en forma de trypomastigote sanguíneo y al llegar al intestino se transforma en epimastigote. En este estadio se multiplica en grandes cantidades por fisión binaria y el llegar a la porción inferior del tracto digestivo del insecto se vuelve a transformar, ahora en trypomastigote meta cíclico, que es la forma en que se elimina por las heces, para comenzar el ciclo infectivo al picar a algún mamífero para alimentarse de su sangre como ya se ha descrito (Kirchhoff, 2011; Weese et al., 2011).

De acuerdo a Romero-López y Martínez-Maya (2010), un hospedero es un animal vivo que de manera natural permite que un agente infeccioso se aloje en él, pudiendo sufrir o no la acción de dicho agente; por otro lado, se considera como reservorio de una enfermedad, a aquel hospedero que es capaz de mantener por largo tiempo las poblaciones del agente etiológico en un ecosistema, al que presenta cargas parasitarias que garantizan su transmisibilidad y al que tiene una densidad poblacional apropiada que facilite el encuentro hospedero-vector, hospedero-ambiente o hospedero-hospedero según el tipo de transmisión (Herrera, 2010). Desde este punto de vista, tanto el perro como el humano son susceptibles a *T. cruzi* y capaces de alojarlo durante largos períodos de tiempo (Camacho y De Oliveira, 2007; Rassi y de Rezende, 2012; OMS, 2016), por lo que se pudiese suponer que ambos son hospederos definitivos, ya que se sabe que la fase transmisible al vector (Trypomastigote sanguíneo) sólo circula en sangre durante la etapa aguda de la infección, pues en la crónica permanece formando quistes o nidos (amastigotes) en los tejidos (Graiff, 2010; Rassi Jr et al., 2010). Sin embargo, si se considera la capacidad del parásito para reactivarse, bajo ciertas circunstancias, y volver a la circulación aún en la fase crónica (Rassi y de Rezende, 2012; Salvador et al., 2015), ambos puedan considerarse también como reservorios.

De los mamíferos domésticos el perro, puede ser el principal reservorio de la Tripanosomiasis Americana (Jiménez-Coello et al., 2010a; Weese et al., 2011), aunque el gato también puede tener esa función (Jiménez-Coello et al., 2012). En ambos, es importante la infección vía ingesta del vector o de otros reservorios como roedores haciendo posible la reinfección continua, motivo por lo que suele existir una desproporción entre casos positivos de perros y personas que viven en una misma zona (Jiménez-Coello et al., 2010b)

Entre los animales silvestres se ha demostrado la presencia de *T. cruzi* en 180 especies de mamíferos de los órdenes *Didelphidomorphia*, *Lagomorpha*, *Chiroptera*, *Rodentia*, *Pilosa*, *Cingulata*, *Carnivora*, *Primata*, *Perisodactyla* (Herrera, 2010; Kirchhoff, 2011; Rodrigues-Coura, 2015). En Yucatán la zarigüeya (*Didelphys virginiana*) tiene un papel destacado como reservorio sinantrópico, con una prevalencia de 53.9% (Ruiz-Piña y Cruz-Reyes, 2002).

Se ha determinado que los perros que pernoctan y/o que habitan fuera de la casa tienen mayor oportunidad de ser picados por *T. dimidiata* (Jiménez-Coello et al., 2015), de manera especial si la vivienda tiene las características arriba descritas o se ubica dentro o rodeada de zonas silvestres.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Patogénesis en perros

Una vez que el parásito entra al hospedero, comienza a circular en el torrente sanguíneo o a entrar en los macrófagos, diseminándose así por todo el organismo (Vitt et al., 2016). Los trypomastigotes se adhieren a éstos mediante moléculas de adhesión intercelular solubles en el suero (s-ICAM) y moléculas solubles de adhesión vascular (s-VCAM). La entrada al macrófago se da mediante el reconocimiento ligando receptores, a través de moléculas tipo lectina y receptores de la familia de las integrinas, específicamente la Fibronectina (Fn), que actúa como puente (Paláu, 2016).

En los macrófagos los trypomastigotes de *T. cruzi* pueden transformarse en amastigote y multiplicarse por fisión binaria (Weese et al., 2011). La unión de los estados de amastigotes a macrófagos es facilitada por moléculas receptoras de Manosa y otras proteínas tipo lectinas. Para su transformación y la subsecuente multiplicación intracelular se requiere de una molécula conocida como cruzipain, que es una proteasa de cisteína producida por el parásito (Paláu, 2016). Después de multiplicarse, los amastigotes se transforman nuevamente en trypomastigotes, entonces modulan la apoptosis, adelantándola o propiciándola, con el fin de romper los macrófagos que los albergan y facilitar su liberación de nuevo a la circulación (Weese et al., 2011; Paláu, 2016).

Los trypomastigotes circulantes infectan principalmente el miocardio. Para su entrada en este tipo de células no solo interviene la Fn, también actúan receptores colinérgicos y adrenérgicos en mioblastos y células cardíacas respectivamente, incluso se encuentra la Penetrina que promueve la adhesión del trypomastigote a la matriz extracelular (Paláu, 2016). Este proceso puede ocurrir también en tejido nervioso, linfático, hepático, esplénico, gastrointestinal y adrenal (Vitt et al., 2016).

Al entrar el trypomastigote en la célula hospedera es rodeado por una estructura conocida como vacuola parasitófora, que se forma debido a la estrecha unión entre las membranas celular y lisosomal en el sitio donde se adhiere la membrana del parásito. La sobrevivencia de éste en parte se debe a moléculas ancladas a su membrana por el glycosil-phosphatidil-inositol (GPI), tales como las glicoproteínas gpS2 y gp90. Una vez dentro de la vacuola parasitófora, *T. cruzi* escapa de ella al secretar una toxina formadora de poros conocida como TC-TOX, la cual no es tóxica para el mismo agente debido a la acción de la Neuraminidasa que transfiere uniones alfa del ácido siálico de la célula a la membrana parasitaria, haciéndola resistente a su misma TC-TOX. Se sabe que la Neuraminidasa también deprime la acción de las células del sistema inmune del hospedero. Otros factores que permiten a *T. cruzi* establecerse en las células blanco son la interferencia en la combustión respiratoria del fagocito, ya sea neutralizando los derivados tóxicos del oxígeno cuando se forman o inhibiendo la actividad de su combustión respiratoria, que da como resultado inhibición de la síntesis de óxido nítrico (NO), la falta del cual hace a los macrófagos incapaces de destruir organismos intracelulares (Paláu, 2016).

Una vez dentro de las células cardíacas, los trypomastigotes se transforman nuevamente en amastigotes, los cuales pueden formar pseudo quistes. Al parecer, las excretas de los amastigotes (Co<sub>2</sub>, acetato y succinato) causan daño tóxico en el hospedero (Camacho y De Oliveira, 2007), lo que produce una respuesta inmunomediada que provoca degeneración del tejido cardíaco y sustitución de este por fibras de colágeno (Cunha-Neto et al., 2011). Sin embargo, se sabe que en pacientes humanos inmunosuprimidos por otras infecciones, neoplasias o enfermedades autoinmunes, los amastigotes pueden reactivarse, transformarse en trypomastigotes, romper las células que los albergan y volver a la circulación (Rassi y de Rezende, 2012; Salvador et al., 2015)



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Los trypomastigotes pueden detectarse en frotis sanguíneos tan temprano como a los 3 días post infección y a los 14 días llegan a los tejidos transformándose en amastigotes; la parasitemia alcanza su pico a los 17 días (Vitt et al., 2016). La parasitemia disminuye al momento que la respuesta humoral y celular del hospedero aumenta, es entonces cuando se inicia la etapa crónica. Los individuos que no son capaces de generar esta respuesta inmune, generalmente mueren al no poder controlar la infección (Graiff, 2010), pues se ha visto que cargas parasitarias mayores a 2000 trypomastigotes por kg de peso del hospedero son mortales (Quijano-Hernández et al., 2012).

En el humano durante la fase aguda de la enfermedad se puede presentar un cuadro de miocarditis aguda y/o meningoencefalitis, que en el 10% de las ocasiones es mortal (Secretaría de Salud, 2016), los síntomas clínicos más frecuentes son fiebre, cefalea, linfomegalia, palidez, mialgia, distress respiratorio, distensión y dolor abdominal o torácico.

La infección causa en los perros miocardiopatías como en el humano. En la etapa aguda los parásitos (en etapa de amastigote) pueden encontrarse principalmente en el miocardio, pero también han sido aislados en cerebro, linfonodos, líquido cefalorraquídeo, hígado, bazo, tracto gastrointestinal y glándulas adrenales. En corazón se reporta severa pancarditis linfoplasmocítica e histiocítica necrotizante en ambos atrios y ventrículos, lo que provoca dilatación cardíaca derecha, taquicardia supra ventricular, bloqueo de rama izquierda, taquicardia ventricular sostenida y disfunción sistólica (Vitt et al., 2016).

La forma digestiva se ha estudiado en modelos murinos. Durante la fase aguda se observan cambios inflamatorios degenerativos y necrosis de las células musculares inducida por la inflamación (Campos et al., 2016).

La etapa crónica asintomática puede durar toda la vida del paciente (60% de los casos) o tener una duración de entre 15 a 20 años antes de pasar a la fase crónica sintomática (Secretaría de Salud, 2016). En los perros ocurre una situación similar, los cambios en el corazón se van sucediendo de forma silenciosa durante algunos meses a años (Camacho y De Oliveira, 2007), mientras el daño causado por el parásito produce una respuesta inmunomediada que provoca degeneración del tejido cardíaco y sustitución de este por fibras de colágeno (Guedes et al., 2007; Garzoni et al., 2008; Cunha-Neto et al., 2011)

En la fase asintomática, dependiendo de la cepa de *T. cruzi* presente, puede desarrollarse un cuadro clínico digestivo y/o cardíaco (Higuera et al., 2013). En el humano 10% de los pacientes crónicos presenta alteraciones digestivas (megaesófago y megacolon), neurológicas o mixtas; mientras que 30% presentan el cuadro cardíaco (OMS, 2016), el cual consiste en disfunción contráctil del miocardio y arritmias altamente emboligénicas, que luego evoluciona en una cardiomiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca congestiva (Secretaría de Salud, 2016).

Durante esta etapa en los pacientes caninos también se reportan arritmias ventriculares, endocarditis, endocardiosis valvular e insuficiencia cardíaca congestiva. Se cree que la arritmia es debida a pérdida de ganglios parasimpáticos atriales y fibras neuronales del haz de His (Graiff, 2010). Debido a la degeneración y fibrosis ya mencionada, se desarrolla atrofia de músculos papilares y anillos valvulares, que desencadena la insuficiencia valvular. El miocardio disminuye su contractibilidad, lo que adicionado a los mecanismos compensatorios cardiovasculares, crea un aumento de la precarga que da como resultado, en la fase terminal de la etapa crónica, la



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

cardiomiopatía dilatada (Camacho y De Oliveira, 2007). Estas alteraciones provocan disfunción diastólica y sistólica como se observa en perros con cardiomiopatía dilatada primaria, en los que se reporta disminución del flujo atrio-ventricular y reducción en las fracciones de eyección y acortamiento (Chetboul, 2016). El cuadro digestivo en etapa crónica se caracteriza por inflamación focal en los plexos de Auerbach, pérdida de neuronas y disminución de la densidad de haces de nervios intramusculares, lo que causa el típico megacolon y megaesófago (Campos et al., 2016)

### Prevención y control

No existen en México estrategias gubernamentales para disminuir la incidencia de casos en humanos y mucho menos en animales domésticos que pueden ser como reservorios importantes en el ciclo de transmisión a los humanos.

La vigilancia vectorial de los triatominos transmisores de *T. cruzi* comprende un conjunto de acciones cuyo objetivo es la eliminación de infestaciones y reinfestaciones de los vectores en la vivienda y sus alrededores en forma permanente, junto con los procesos que eliminan las colonizaciones de otras especies de triatominos (Días et al., 2002; Alzogaray y Zerba, 2017).

El control químico vectorial es una de las principales medidas adoptadas para la interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por especies antropofílicas a la población humana, animales domésticos y silvestres conocidos como hospederos o reservorios (Galvao, 2014). Desde el conocimiento de la variedad de especies con posibilidad vectorial en la transmisión de *T. cruzi*, se han propuesto iniciativas con apoyo de sustancias químicas para su eliminación, por lo que se han utilizado organoclorados (DDT, dieldrín, lindano), organofosforados (diclorvos, clorpirifos, malatión), ésteres metilcarbámicos (aldicarb, carbofurano) y los piretroides sintéticos (permetrina, deltametrina) (Schofield et al., 1987).

Los programas de control vectorial iniciaron desde 1950 y durante 10 años posteriores se utilizaron rociamientos con lindano y dieldrín, pero los costos eran elevados y la gran cantidad de mano de obra provocaron su desuso. Por ello, durante 1960 a 1975 se emplearon propoxur y diclorvos que provocaron efectos residuales con mayor duración y con costos económicos elevados, por lo que se emplearon malatión y fenitrotión a partir de 1975, logrando disminuir las aplicaciones consecutivas hasta por 2 años por lo que se disminuyeron los costos operativos, sin embargo, el olor fue rechazado por la población por lo que se utilizaron únicamente en estructuras peridomiciliarias como gallineros, potreros y corrales. Finalmente, fue a partir de 1980 que se utilizaron deltametrín, cipermetrín y permetrín logrando mantener libre de vectores hasta por 2 años junto con la baja toxicidad, por lo que su uso en la actualidad persiste (OMS, 2016).

En la actualidad, las piretrinas y piretroides son considerados los insecticidas con mayor uso por la bioseguridad que confieren, mejores propiedades físicas, químicas y mayor potencia insecticida (amplio espectro) y una toxicidad selectiva entre mamíferos e insectos afectados (Schofield, 1985). Se han empleado mallas de aluminio impregnado con cialotrin pero debido a la falta de nuevas impregnaciones con el paso del tiempo y el lavado constante en las mallas ocasiona una reducción en la mortalidad de los triatominos hasta en un 80% (Rubio-Palis y Guerra, 2007). Otra vía de administración de los piretroides sintéticos son las fumigaciones, usando químicos de acción rápida, por lo que son de un costo bajo y facilidad de aplicación, sin embargo, se sabe que posterior a un



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

intervalo de tiempo existen reinfestaciones, efecto atribuido al químico empleado y a su fácil degradación (Schofield, 1985; Schofield et al., 2006).

En el perro, al ser considerado como un hospedero y reservorio de *T. cruzi* (Dumonteil et al., 2017) se han estudiado diversas estrategias de control vectorial reutilizando presentaciones comerciales usadas comúnmente para otros artrópodos (garrapatas, pulgas y ácaros) con objetivos insecticidas o repelentes en triatominos. Un ejemplo de ello es el uso de collares impregnados con deltametrina en contra de poblaciones de *Triatoma infestans*, disminuyendo su alimentación en un 84% de los triatominos con una duración de 90 días (Reithinger et al., 2005). Un estudio más reciente realizado por Loza et al, (2017) estudiaron la actividad sistémica de tres insecticidas de dosis única, fluralaner, afoxolaner (isoxazolinas) y spinosad (espinosinas A y D) contra *T. infestans*, cada uno demostró diferentes resultados con respecto al vector. Para el caso de fluralaner y el afoxolaner se observó una mortalidad del 100% en perros durante aproximadamente 7 semanas. Para el caso del spinosad, a pesar de demostrar efectos letales en el vector, la duración de este efecto no superó los 51 días, por lo que su uso no es considerado eficaz contra él vector.

Junto con otros animales domésticos, también se ha utilizado fipronil líquido (1.0%) para el control de ninfas de *T. infestans* en ambientes peridomiciliares en aves, perros y cabras en condiciones de laboratorio y campo, resultado una mortalidad del 88.8% y 65.4% posterior a 30 días, respectivamente (Gentile et al., 2004). Sin embargo, un estudio contrastante, demostró que el uso de fipronil spot-on tiene un efecto limitado y transitorio sobre la alimentación y dinámica poblacional de *T. infestans* al eliminar el 18.7% a los 30 días posteriores a la exposición (Gürtler et al., 2009). De forma similar, se utilizó en forma pour-on cipermetrina con butóxido de piperonilo en aves contra de *T. infestans* (ninfas de tercer estadio) lográndose efectos en la mortalidad y reducción de ingesta posterior a 45 días de aplicación en las aves (Amelotti et al. 2012). Otros métodos utilizados, son las xenointoxicaciones con piretroides y organoclorados en aplicaciones sistémicas, actuando como trampas letales cebadas (Schofield et al., 2000). Se destaca que aunque existen opciones para la prevención y control de la exposición a picaduras de triatominos en perros, es necesario determinar cuales son las opciones más eficaces, menos tóxicas y con una mejor relación costo – beneficio, así como también compartir la información de dichas opciones profilácticas tanto entre médicos veterinarios como entre propietarios, a fin de promover la utilización de estos productos en los animales de compañía de zonas endémicas.

### Referencias bibliográficas

- Alzogaray RA, Zerba EN. (2017) *Rhodnius prolixus* intoxicated. Journal of Insect Physiology. 97: 93-113.
- Amelotti I, Catalá S, Gorla D. (2012) Effects of fipronil on dogs over *Triatoma infestans*, the main vector of *Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas disease. Parasitology Research. 111:1457-1462.
- Camacho AA, De Oliveira R. (2007) Cardiopatía chagásica en caninos. In: Belerenian, G., Mucha, CJ Camacho A A, Manubens-Grau J. (eds). Afecciones Cardiovasculares en Pequeños Animales. Inter-Médica, Buenos Aires. p. 289-295.
- Campos CF, Cangussú SD, Duz ALC, Cartelle CT, Noviello MDL, Veloso VM, Bahia MT, Almeida-Leite CM, Arantes RME. (2016) Enteric Neuronal Damage, Intramuscular Denervation and



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Smooth Muscle Phenotype Changes as Mechanisms of Chagasic Megacolon: Evidence from a Long-Term Murine Model of *Trypanosoma cruzi* Infection. PLoS One 11(4):1-18.
- Chetboul V. (2016) Dilated Cardiomyopathy and Other Cardiomyopathies in Dogs, In: de Madron, E., Chetboul, V. y Bussadori, C (eds). Clinical Echocardiography of the Dog and Cat. Elsevier Health Sciences, St. Louis Missouri. p. 181-205
- Cunha-Neto E, Teixeira PC, Nogueira LG, Kalil J. (2011) Autoimmunity. In: Weiss, L. M. y Tanowitz, H. B. (eds). Advances in Parasitology No. 76. Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 129-152.
- Dias JC, Silveira AC, Schofield CJ. (2002) The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz. 97(5):603-612.
- Dumonteil E, Ramirez-Sierra M, Pérez-Carrillo S, Teh-Poot C, Herrera C, Gourbière S, Waleckx E. (2017) Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implication for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. Scientific Reports. 8: 40-49.
- Garzoni LR, Adesse D, Soares MJ, Rossi MID, Borojevic R, de Meirelles MDL. (2008) Fibrosis and hypertrophy induced by *Trypanosoma cruzi* in a three-dimensional cardiomyocyte-culture system. Journal of Infectious Diseases 197(6):906-915.
- Galvao C, Rocha R, Da Silva D, Jurberg J. (2003) A checklist of the current valid species of the subfamily *Triatominae* Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa. 202(1): 1-36.
- Gentile AG, Sartini JL, Campo CM, Sánchez FJ. (2004) Efficacy of Fipronil in the control of the peridomestic cycle of *Triatoma infestans* in an area resistant to deltamethrin. Cadernos Saúde Pública. 20(5).
- Graiff DS. (2010) Relación entre perros seropositivos a *Trypanosoma cruzi* y alteraciones electrocardiográficas compatibles con miocardiopatía chagásica canina en la localidad de La Para (Córdoba-Argentina). Tesis, Maestría en Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.
- Guedes PMM, Veloso VM, Caliarí MV, Carneiro CM, Souza SM, de Lana M, Chiari E, Bahia MT, Galvao LMC (2007) *Trypanosoma cruzi* high infectivity in vitro is related to cardiac lesions during long-term infection in Beagledogs. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz 102(2):141-147.
- Guhl F. (2009). Enfermedad de Chagas: realidad y perspectivas. Revista Biomedica 20(3): 228-234.
- Guhl F. (2016) Epidemiología molecular de *Trypanosoma cruzi*. Revista Española de Salud Pública:1-8.
- Gürtler RE, Cohen JE, Cécere MC, Lauricella MA, Chuit R, Segura EL. (1988) Influence of humans and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 58:748-758.
- Gürtler R, Ceballos A, Stariolo R, Kitron U, Reithinger R. (2009). Effects of topical application of fipronil spot-on on dogs against the Chagas disease vector *Triatoma infestans*. Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 103(3):298-304.
- Herrera-Aguilar M, Be-Barragan LA, Ramirez-Sierra MJ, Tripet F, Dorn P, Dumonteil E. (2009) Identification of a large hybrid zone between sympatric sibling species of *Triatoma dimidiata* in the Yucatan peninsula, Mexico and its epidemiological importance. Infection Genetics and Evolution 9(6):1345-1351.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Herrera L. (2010) Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. Boletín de Malariología y Salud Ambiental 50(1):3-15.
- Higuera SL, Guhl F, Ramirez JD. (2013) Identification of *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units (DTUs) through the implementation of a High-Resolution Melting (HRM) genotyping assay. Parasites & Vectors 6:112.
- Jiménez-Coello M, Ortega-Pacheco A, Guzman-Marin E, Guiris-Andrade DM, Martinez-Figueroa L., Acosta-Viana KY (2010a) Stray Dogs as Reservoirs of the Zoonotic Agents *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma cruzi*, and *Aspergillus spp.* in an Urban Area of Chiapas in Southern Mexico. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 10(2):135-141.
- Jiménez-Coello M, Guzmán-Marín E, Ortega-Pacheco A, Acosta-Viana KY. (2010b). Serological survey of American Trypanosomiasis in dogs and their owners from an urban area of Mérida Yucatán, México. Transboundary and Emerging Diseases 57(1-2):33-36.
- Jiménez-Coello M, Acosta-Viana KY, Guzman-Marin E, Gomez-Rios A., Ortega-Pacheco, A. (2012) Epidemiological Survey of *Trypanosoma cruzi* Infection in Domestic Owned Cats from the Tropical Southeast of Mexico. Zoonoses and Public Health 59:102-109.
- Jiménez-Coello M, Acosta-Viana KY, Guzmán-Marín E, Bárcenas-Irabién A, Ortega-Pacheco A. (2015) American trypanosomiasis and associated risk factors in owned dogs from the major city of Yucatan, Mexico. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 21:37.
- Kirchhoff LV. (2011) Epidemiology of American Trypanosomiasis (Chagas Disease). In Weiss LM, Tanowitz, HB y Kirchhoff LV. (eds). Advances in Parasitology No. 75. Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 1-18.
- Licón-Trillo A, Balsimelli-De La Peña, K, Acosta-Legarda M, Leal-Berumen I, Noguera-Torres B., Martínez-Ibarra JA. (2010) Infección natural por *Trypanosoma cruzi* en triatomíneos del Centro y Norte de México. Boletín de Malariología y Salud Ambiental 50 (2):311-314.
- Loza A, Talaga A, Herbas G, Canavari R, Cahuasiri T, Luck L, Guibarra A, Goncalves R, Pereira J, Gomez S, Picado A, Messenger L, Bern C, Courtenay O. (2017) Systemic insecticide treatment of the canine reservoir of *Trypanosoma cruzi* induces high levels of lethality in *Triatoma infestans* a principal vector of Chagas disease. Parasites and Vectors. 10(1):344.
- Martínez-Ibarra JA, Noguera-Torres B, Salazar-Schettino PM, Cabrera-Bravo M, Vences-Blanco MO, Rocha-Chávez G. (2016) Transmission Capacity of *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) by three subspecies of *Meccus phyllosomus* (Heteroptera: Reduviidae) and their hybrids. Journal of Medical Entomology 53(4):928-934.
- Miles MA, Llewellyn MS, Lewis MD, Yeo M, Baleela R, Fitzpatrick S, Gaunt MW, Mauricio IL. (2009) The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. Parasitology 136(12):1509-1528.
- Noireau F, Diosque P, Jansen A. (2009). *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Veterinary Research 40(2):1-23.
- Nouvellet P, Ramirez-Sierra MJ, Dumonteil E, Gourbiere S. (2011) Effects of genetic factors and infection status on wing morphology of *Triatoma dimidiata* species complex in the Yucatan peninsula, Mexico. Infection Genetics and Evolution 11(6):1243-1249.
- OMS. (2016) OMS La enfermedad de Chagas (triptanosomiasis americana). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>. (Accessed 15 november 2018).
- Otálora-Luna F, Pérez-Sánchez A, Sandoval C, Aldana E. (2015) Evolution of hematophagous habit in Triatominae (Heteroptera: Reduviidae). Revista Chilena de Historia Natural 88:4.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Paredes GEA, Valdez MJ, Noguera TB, Alejandre-Aguilar R, Cannet RR. (2001) Vectorial importance of triatominae bugs (*hemiptera: reduviidae*) in Guaymas, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol* 2001; (43):119-122.
- Paláu MT (2016) Relación hospedero-parásito *Trypanosoma cruzi*. *Revista MVZ Córdoba* 5(1):33-37.
- Quijano-Hernández IA, Castro-Barcena A, Aparicio-Burgos E, Barbosa-Mireles MA, Cruz-Chan JV, Vázquez-Chagoyán JC, Bolio-González ME, Dumonteil E. (2012) Evaluation of clinical and immunopathological features of different infective doses of *Trypanosoma cruzi* in dogs during the acute phase. *The Scientific World Journal* 2012:635169-635166.
- Ramírez JD, Guhl F, Rendón LM, Rosas F, Marín-Neto JA, Morillo CA (2010) Chagas Cardiomyopathy Manifestations and *Trypanosoma cruzi* Genotypes Circulating in Chronic Chagasic Patients. *Plos Neglected Tropical Diseases* 4(11):9.
- Ramsey JM, Peterson AT, Carmona-Castro O, Moo-Llanes DA, Nakazawa Y, Butrick M, Tun-Ku E, de la Cruz-Félix K., Ibarra-Cerdeña CN. (2015) Atlas of Mexican Triatominae (*Reduviidae: Hemiptera*) and vector transmission of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 110 (3):339-352.
- Reithinger R, Ceballos L, Stariolo R, Davies C, Gurtler ER. (2005). Chagas disease control: deltamethrin-treated collars reduce *Triatoma infestans* feeding success on dogs. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 99(7): 766-771.
- Romero-López JA, Martínez-Maya JJ (2010) Historia natural de la enfermedad. In: Jaramillo-Arango, CJ, Martínez-Maya, J. (eds). *Epidemiología Veterinaria. Manual Monderno*, México, D. F. p. 19 - 31.
- Rassi A, de Rezende JM (2012) American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infectious Disease Clinics* 26(2):275-291.
- Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA. (2010) Chagas disease. *The Lancet* 375 (9723):1388-1402.
- Rubio-Palis Y, Guerra L. (2007). Evaluación del poder residual del insecticida deltametrina en telas de mosquiteros. *Entomotropica*. 18(1):63-68.
- Ruiz-Piña HA, Cruz-Reyes A. (2002) The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilche, Yucatan, Mexico. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 97(5):613-620.
- Salazar Schettino PM, Rojas-Wastavino GE, Cabrera-Bravo M, Bucio Torres MI, Martínez Ibarra JA, Monroy Escobar MC, Rodas Retana A, Guevara Gómez Y, Vences Blanco MO, Ruiz Hernández AL. (2010) Revisión de 13 especies de la familia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas, en México. *Journal of the Selva Andina Research Society* 1(1):57-81.
- Salazar-Schettino PM, Bucio-Torres M, Cabrera-Bravo MC, de Alba-Alvarado DR, Castillo-Saldaña EA, Zenteno-Galindo J, Rojo-Medina N., Fernández-Santos A., Perera-Salazar MG. (2016). Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 59(3):6-16.
- Salvador F, Sánchez-Montalvá A, Valerio L, Serre N, Roure S, Treviño B, Pou D, Sulleiro E, Bocanegra C., Molina I. (2015) Immunosuppression and Chagas disease; experience from a non-endemic country. *Clinical Microbiology and Infection* 21(9):854-860.
- Schofield CJ. (1985) Control of Chagas' Disease vectors. *British Medicine Bulletin* 41(2):187-194.
- Schofield, CJ, Minter, D, Tonn, R. (1987) The triatomine bugs: biology and control. *World Health Organization. Vector Biology and Control Division*. p 12-45.
- Schofield C.J. (2000). Challenges of Chagas disease vector control in Central America. *World Health Organization*. . p 8-11.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. (2006). The future of Chagas disease control. *Trends in parasitology*. 22(12):583-588.
- Secretaría de Salud. (2016) Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. <http://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-141143>. (Accessed 30 september 2016).
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. (2016) *Veterinary Parasitology*. Wiley Blackwell, New Delhi.
- Vitt JP, Saunders AB, O'Brien MT, Mansell J, Ajithdoss D, Hamer SA. (2016) Diagnostic Features of Acute Chagas Myocarditis with Sudden Death in a Family of Boxer Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(4):1210-1215.
- Weese JS, Peregrine AS Anderson MEC, Fulford MB. (2011) Parasitic Diseases. In: Weese JS, Fulford MB (eds). *Companion Animal Zoonoses*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. p. 3-107.
- Zingales B, Andrade S, Briones M, Campbell D, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva, E, Macedo A, Machado C, Miles M, Romanha A, Sturm N, Tibayrenc M, Schijman, A. (2009) A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104(7):1051-1054.
- Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MMG, Schijman AG, Llewellyn MS, Lages-Silva E, Machado CR. (2012) The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution* 12(2):240-253.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## LEISHMANIASIS ZONÓTICA EN MÉXICO.

Jorge Jesús Rodríguez Rojas

Universidad Autónoma de Nuevo León, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, Unidad de Patógenos Emergentes, Reemergentes y Vectores. Avenida Gonzalitos s/n, Mitras Centro, CP. 64460, Monterrey, Nuevo León, México. jorge.rodriguezr@uanl.mx

Las leishmaniasis son un conjunto de enfermedades causadas por protozoos obligados intracelulares del género *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), estos son transmitidos por la picadura de insectos dípteros hembras del género *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae, siguiendo la clasificación de Lewis *et al.*, (1977)) en América (Killick-Kendrick, 1990; Ready, 2013). Este insecto díptero hematófago adquiere la infección durante la alimentación de un huésped infectado. Después, los parásitos se multiplican en el intestino (medio o posterior) y migran a las partes bucales del insecto hembra, que después la transmite al inocular promastigotes de *Leishmania* en la piel del huésped (Ready, 2013).

Se han descrito 53 especies de *Leishmania*, de las cuales, alrededor de 20 causan alguna de las cuatro principales formas clínicas al humano: la leishmaniasis cutánea localizada, la leishmaniasis mucocutánea, la leishmaniasis cutánea difusa y la leishmaniasis visceral (Ready, 2013). Estas formas clínicas se encuentran en 98 países, distribuyéndose en amplias zonas de América, África, Asia y el Mediterráneo. En América, las leishmaniasis están presentes en casi todos los países (OMS, 2010; Alvar *et al.*, 2012). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las leishmaniasis son todavía una de las Enfermedades Tropicales Olvidadas (en inglés, "Neglected Tropical Disease"), que afecta principalmente a los países en vías de desarrollo, por lo que se estima que ocurren cada año dos millones de casos nuevos en todo el mundo y el número de personas infectadas sobrepasa los 350 millones (OMS, 2010).

Los insectos pertenecen a la subfamilia Phlebotominae, y se les llama flebotomíneos en español, pero tienen muchos nombres populares como "papalotilla", "mosca chiclera", entre otros. En América, los flebotomíneos se distribuyen tanto en la región Neártica como la Neotropical del continente, desde Estados Unidos de América hasta Argentina (Young y Duncan, 1994). En el mundo existen alrededor de 1,000 especies de la subfamilia Phlebotominae, y cerca de 530 especies se encuentran en América. El género *Lutzomyia* posee el mayor número de especies, con casi 400 especies (Young y Duncan, 1994; Galati, 1995; 2016). Sin embargo, alrededor de 70 especies de flebotomíneos son considerados vectores de *Leishmania* en el mundo (Ready, 2013). En México, se tienen registradas 52 especies (50 existentes y 2 fósiles) de flebotomíneos. Pero las especies de mayor importancia médica y veterinaria son: *Lutzomyia olmeca olmeca* (Vargas & Díaz-Nájera), *Lutzomyia cruciata* (Coquillett), *Lutzomyia shannoni* (Dyar), *Lutzomyia panamensis* (Shannon), *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva), *Lutzomyia diabolica* (Hall), *Lutzomyia anthophora* (Addis), *Lutzomyia gomezi* (Nitzulescu), *Lutzomyia ylephiletor* (Fairchild & Hertig), *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz), y *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar) (Rebollar-Téllez *et al.*, 1996; Canto-Lara *et al.*, 2007; Sánchez-García *et al.*, 2010; Pech-May *et al.*, 2010; 2016). Cada una de estas especies puede transmitir alguna especie particular de *Leishmania* en México.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En México, se han evidenciado las cuatro formas clínicas de las leishmaniasis, sin embargo, la manifestación más común es la leishmaniasis cutánea localizada, conocida localmente como “úlceras del chiclero” en el sur de México, donde fue reconocida como una zona endémica de leishmaniasis cutánea (Seidelin, 1912; Biagi, 1953; Biagi *et al.*, 1965). La leishmaniasis cutánea localizada fue descrita por primera vez en 1912 por el médico danés Harald Seidelin (Seidelin, 1912), quien reportó los primeros casos en el estado de Yucatán e identificó al parásito por impronta. Años más tardes, reconocieron e identificaron a este parásito como *Leishmania mexicana* Biagi (Biagi, 1953; Garnham, 1962).

*Leishmania mexicana* es la especie con mayor distribución en México y Sur de Estados Unidos de América, por lo que es la responsable de más del 95% de los casos (SSA, 2019). Y los vectores responsables de su transmisión en México son *Lu. olmeca olmeca*, *Lu. cruciata*, *Lu. shannoni*, y *Lu. panamensis*, además de que presentan una alta preferencia por alimentarse del humano, o lo que es igual, presentan una marcada antropofilia (Rebollar-Téllez *et al.*, 1996; Canto-Lara *et al.*, 2007; Sánchez-García *et al.*, 2010; Pech-May *et al.*, 2010; 2016). Pero existen otras especies que están por incriminarse como vectores de *Leishmania mexicana*, tal es el caso de *Lu. diabolica*, *Lu. anthophora*, *Lu. gomezi*, y *Lu. ylephiletor*.

Por otra parte, existe otra especie de parásito que causa la leishmaniasis cutánea, esta es *Leishmania braziliensis*, la cual fue reportada por primera vez en Oaxaca (Velasco-Castrejón *et al.*, 1989). Desde su hallazgo, se han encontrado más casos de forma esporádica en Nayarit (Sánchez-Tejeda *et al.*, 2001) y en la Península de Yucatán (Canto-Lara *et al.*, 1998; Hernández-Montes *et al.*, 1998; Hernández-Rivera *et al.*, 2015). Aunque la distribución de *Leishmania braziliensis* es más para regiones de Centroamérica y Sudamérica (Killick-Kendrick, 1990). Por lo que solo se tiene la sospecha que *Lutzomyia ovallesi* juegue un papel importante en la transmisión de *Leishmania braziliensis* en México. Ya que es considerado vector en el oeste de los Andes y norte de Venezuela (Ready, 2013).

En cuanto a la leishmaniasis visceral, esta es causada por *Leishmania infantum/chagasi* Nicolle. El primer caso que se reportó en México fue en Guerrero (Baez-Villaseñor *et al.*, 1953), y desde entonces se han sumado nuevos casos en el país (Monroy-Ostria *et al.*, 2000; Romano-Mazzotti *et al.*, 2004; González-Saldaña *et al.*, 2008; Rosete-Ortiz *et al.*, 2011; Pastor-Santiago *et al.*, 2012). Se cree que los vectores sospechosos implicados en la transmisión de *Leishmania infantum/chagasi* puedan ser *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi*. Se desconoce el papel vectorial de estas especies de dípteros en México, pero su distribución geográfica se traslapa con las zonas de transmisión de la enfermedad. Sin embargo, es bien conocido que tanto *Lu. longipalpis* y *Lu. evansi* son los principales vectores de *Leishmania infantum/chagasi* en algunos países de Sudamérica (Ready, 2013).

En general, las leishmaniasis se consideran un problema de salud pública en México, ya que se encuentra en 22 estados (Sánchez-Tejeda *et al.*, 2001; Sosa-Ávila *et al.*, 2014). Si bien, históricamente se habla de tres principales zonas de endemia: la del sur que abarca Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas, Nayarit, Yucatán, Quintana Roo y Campeche; la del centro en los estados de San Luis Potosí, Puebla, Hidalgo, Guerrero, Morelos, Oaxaca y Michoacán; y la del norte que afecta a Tamaulipas, Nuevo León y Coahuila (Velasco-Castrejón *et al.*, 1989; Sosa-Ávila *et al.*, 2014). Sin embargo, con las recientes investigaciones sobre los casos de leishmaniasis en Sinaloa



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

y Durango (Ochoa-Díaz *et al.*, 2012; Pérez-Vega *et al.*, 2009), es conveniente revalorar otra zona de endemia como es el noroeste de México.

Las leishmaniasis son principalmente zoonosis transmitidas en los focos naturales dentro de una zona geográfica y medio ambiente bien definido (Ostfeld y Keesing, 2000). Garnham (1959) menciona que la zoonosis es una infección de animales vertebrados transmisibles al hombre, o lo que es igual, una infección del hombre adquirida de animales vertebrados. El término zoonosis implica que el hombre es un huésped accidental y no contribuye al mantenimiento de un foco de infección (Disney, 1968). De esta manera, Ashford (1996) define al huésped reservorio como aquel organismo (principalmente algún mamífero) que tiene la capacidad de mantener por largo tiempo en una población el agente infeccioso, en este caso el parásito *Leishmania*. El también menciona o diferencia al huésped incidental y secundario, y un huésped de enlace que funge en las infecciones en humanos (Ashford, 1996). De esta manera, Chaves *et al.* (2007) mencionan que, para ser considerado un reservorio efectivo, deben de presentar ciertas características como: tener un alto grado de exposición a los vectores flebotomíneos (como fuente primaria de alimentación de sangre); ser capaz de albergar el parásito durante largos períodos sin desarrollar la enfermedad; y tener la evidencia que han sido infectados con cepas de parásitos implicados en casos humanos.

Desde mediados del siglo XX, ya se tenían observaciones sobre la leishmaniasis como una zoonosis, principalmente en la selva de Belice (ej. Disney, 1968). Donde detectaron a tres especies de roedores – *Otodylomys phyllotis* Merriam, *Heteromys desmarestianus* Gray y *Nyctomys sumichrasti* – con lesiones cutáneas infectadas con *Leishmania mexicana* (Disney, 1968), y la infección estaba limitada a personas que trabajaban en la selva (Garnham & Lewis, 1959), extrayendo la savia del árbol chicozapote *Manilkara zapota* (L.) para elaborar el “chicle”, y a estas personas se les llamaba “chicleros”. En estas áreas beliceñas, el principal vector es *Lu. olmeca* (Disney, 1968).

La evidencia sobre la fauna silvestre, principalmente mamíferos, involucrada en los ciclos de transmisión zoonótica/selvática en México está aún por escudriñarse. Sin embargo, lo que más se conoce es para el sur de México, principalmente se han reportado a tres especies de roedores silvestres – *Otodylomys phyllotis*, *Peromyscus yucatanicus* JA Allen & Chapman, y *Heteromys gaumeri* JA Allen & Chapman – como reservorios de *Leishmania mexicana*, ya que se les ha encontrado naturalmente infectados con el parásito en varias escalas temporales (Canto-Lara *et al.*, 1999; Chable-Santos *et al.*, 1995; Van Wynsberghe *et al.*, 2000; 2009). Además, existen otras especies de roedores – *Sigmodon hispidus* Say & Ord, *Oryzomys melanotis* Thomas, *Reithrodontomys gracilis* Allen & Chapman, y *Heteromys desmarestianus* – que pudieran estar involucradas en la transmisión (Canto-Lara *et al.*, 1999; Chable-Santos *et al.*, 1995; Van Wynsberghe *et al.*, 2000; 2009). Asimismo, se ha encontrado a *Leishmania mexicana* en otros mamíferos silvestres de México como en el tlacuache mexicano, *Marmosa mexicana* Merriam (Van Wynsberghe *et al.*, 2009); en trece especies de murciélagos (Berzunza-Cruz *et al.*, 2015), en dos especies de monos como *Alouatta pigra* Lawrence y *Alouatta palliata* (Gray) (Roviroso-Hernández *et al.*, 2013); en un jaguar, *Panthera onca* (Linnaeus) (Zarza *et al.*, 2015); y en un tamandúa mexicana, *Tamandua mexicana* Saussure (Muñoz-García *et al.*, 2019).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Ciertamente, solo hay un estudio (Rodríguez-Rojas *et al.*, 2017) que demuestra la presencia de *Leishmania mexicana* en roedores silvestres del norte de México. Estas especies de roedores (*Peromyscus eremicus* (Baird), *Peromyscus leucopus* Rafinesque, *Peromyscus maniculatus* (Wagner) y *Sigmodon hispidus*) fueron capturadas en algunos municipios de Nuevo León como Cadereyta Jiménez, Linares y Santiago. Interesantemente, en ninguno de los 16 ejemplares de *Neotoma micropus* mostraron evidencia de *Leishmania mexicana* (Rodríguez-Rojas *et al.*, 2017). Ellos esperaban detectar el parásito en *Neotoma micropus* por los antecedentes en Texas, EUA. En estas partes de sureste de EUA, han evidenciado una prevalencia de infección de *Leishmania mexicana* desde 3.8% hasta un 27% en la rata magueyera, *Neotoma micropus* (Grogl *et al.*, 1991; Kerr *et al.*, 1995; McHugh *et al.*, 1990; Raymond *et al.*, 2003). En otras especies de roedores como *Neotoma floridana* (Ord) y *Neotoma albigula* Hartley; también han detectado la infección por *Leishmania mexicana* en Texas y Arizona, EUA (Kerr *et al.*, 1999; McHugh *et al.*, 2003).

Por otra parte, las investigaciones sobre la leishmaniasis canina en México son escasas. Hay contados artículos, donde documentan los casos de perros infectados con *Leishmania infantum*, *Leishmania braziliensis* y *Leishmania mexicana* en ambientes domésticos y peridomésticos bien focalizados. Por una parte, Esquinca *et al.*, (2005) hallaron una seroprevalencia de 58.3% (24/14) en perros de San José Terán, Tuxtla Gutiérrez Chipas. Años más tarde, Rosete-Ortiz *et al.*, (2011) encontraron una prevalencia del 60% de los perros infectados con *Leishmania* spp. en Pungarabato, Guerrero. Ellos mencionan que existe un nuevo foco de leishmaniasis canina, y aunque hasta la fecha no se han reportado pacientes en ese municipio, está cerca y comparte las mismas características ecológicas de los bosques tropicales secos que las regiones donde se ha reportado casos humanos de leishmaniasis visceral en México. Otra investigación (Longoni *et al.*, 2011) llevada a cabo en Tulum, Quintana Roo y Celestún, Yucatán; detectaron en perros callejeros la presencia de tres especies de *Leishmania* (*Le. mexicana*, *Le. braziliensis* y *Le. panamensis*) en el suero de estos animales. En otro estudio desarrollado por Pastor-Santiago *et al.*, (2012), reportan una seroprevalencia de 19% (n=224) en perros infectados con *Leishmania* spp., en comunidades del valle central del estado de Chiapas, a menos de 1,000 m sobre el nivel del mar cerca del río Grijalva. En otro trabajo, López-Cespedes *et al.*, (2012) detectaron *Le. braziliensis*, *Le. infantum* y *Le. mexicana* en suero de perros de los estados de Yucatán (Molas, n=147; Xmatkuil, n=26) y Quintana Roo (Playa del Carmen, n=63; Akumal, n=36; Xcalac, n=127; y Xahuaxol, n=13). Ellos analizaron un total de 412 sueros mediante ELISA, y encontraron una prevalencia de *Le. braziliensis* del 7,52%, *Le. infantum* del 6,07% y *Le. mexicana* del 20,63% en la población canina estudiada. Además, Arjona-Jiménez *et al.*, (2012) analizaron mediante ELISA y Western blot 218 sueros de perros de Mérida, Yucatán. Ellos encontraron una variación en la seroprevalencia: 30.2% (*Le. mexicana*), 8.2% (*Le. braziliensis*) y 11.9% (*Le. infantum*). Y las siguientes seroprevalencias de coinfección, con un 5% (11/218) de los perros mostraron anticuerpos contra *Le. mexicana/Le. braziliensis*, 5.5% (12/218) con *Le. mexicana/Le. infantum* y 1.8% (4/218) con *Le. mexicana/Le. braziliensis/Le. infantum*.

Trabajos más recientes, como el de Zamora-Ledesma *et al.*, (2016), quienes detectaron la presencia de anticuerpos contra parásitos de *Leishmania* spp., en zorros grises (*Urocyon cinereoargenteus* Schreber), perros domésticos y salvajes de Querétaro. Ellos analizaron sueros de 21 cánidos, de los cuales, cuatro (19%) fueron positivos para *Le. mexicana* y seis (28.5%) fueron positivos para *Le. infantum*. Por otra parte, Arjona-Jiménez *et al.*, (2017) encontraron por serología anticuerpos de *Le. mexicana* (9.24%) y *Le. braziliensis* (10.08%) en sangre de perros (n=119) en la Chontalpa, Tabasco. Y en un último trabajo de Castillo-Ureta *et al.*, (2019), reportaron tres casos



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

leishmaniasis canina (*Leishmania mexicana*) autóctona por medio de técnicas moleculares (PCR) en el estado de Sinaloa.

Solo existe un estudio (Longoni *et al.*, 2012) sobre la presencia de *Leishmania* en gatos domésticos en México. Longoni *et al.*, (2012) detectaron en gatos una seroprevalencia de 1.05% (1/95) para *Le. mexicana* en Mérida, 5.26% (5/95) para *Le. braziliensis* en Umán, y 13,68% (13/95) para *Le. infantum*, de las cuales 4 fueron de Tulum, 3 de Umán y 6 de Mérida.

Los estados de México donde se ha evidenciado la presencia del parásito *Leishmania* en animales domésticos son Sinaloa, Querétaro, Guerrero, Tabasco, Chiapas, Yucatán y Quintana Roo. Mientras que los estados con casos humanos (> 5 casos por año) de leishmaniasis que se han mantenido constantes en los últimos 10 años (2009-2019) son: Campeche, Chiapas, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán (SSA, 2019).

Con todo este panorama se puede observar que tanto en el norte, centro y sur del país esta presente el parásito *Leishmania* en mamíferos silvestres, y domésticos como perros y gatos. Sin embargo, es necesario hacer mas estudios donde incluyan todos los componentes de Una Salud, que tomen en cuenta la interacción de los casos humanos, los reservorios tanto silvestres y domésticos, así como los vectores que están involucrados en la transmisión espacial y temporal.

### Referencias bibliográficas

- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., ... & WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PloS One*, 7(5), e35671.
- Arjona-Jiménez, G., Villegas, N., López-Céspedes, Á., Marín, C., Longoni, S. S., Bolio-González, M. E., ... & Sánchez-Moreno, M. (2012). Prevalence of antibodies against three species of *Leishmania* (*L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. infantum*) and possible associated factors in dogs from Mérida, Yucatán, Mexico. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 106(4), 252-258.
- Arjona-Jiménez, J., Zaragoza, V., García-Herrera, R., Sánchez, M., Santamaria, M., & Cruz, B. (2017). Antibodies of *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania mexicana* and *Leishmania braziliensis* in domiciled dogs in Tabasco, Mexico. *Rev MVZ Córdoba*, 22(2), 5829-5836.
- Ashford, R. W. (1996). Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, 14(5), 523-532.
- Baez-Villaseñor J, Ruiloba J, Rojas E, Treviño A, Campillo C. (1953). Presentación de un caso de kala-azar. *Revista de Investigación Clínica de México*, 4:57-78.
- Berzunza-Cruz, M., Rodríguez-Moreno, Á., Gutiérrez-Granados, G., González-Salazar, C., Stephens, C. R., Hidalgo-Mihart, M., ... & Ibarra-Cerdeña, C. N. (2015). *Leishmania* (*L. mexicana*) infected bats in Mexico: novel potential reservoirs. *PLOS NTD*, 9(1), e0003438.
- Biagi, F. F. (1953). Algunos comentarios sobre las leishmaniasis y sus agentes etiológicos, *Leishmania tropica mexicana*, nueva subespecie. *Medicina (Mexico)*, 33, 401-406.
- Biagi, F. F., De Biagi, A. M., & Beltrán, F. (1965). *Phlebotomus flaviscutellatus*, transmisor natural de *Leishmania mexicana*. *Prensa Med Mex*, 30, 267-272.
- Canto-Lara, S. B., Cardenas-Maruffo, M. F., Vargas-González, A., & Andrade-Narvaez, F. (1998). Isoenzyme characterization of *Leishmania* isolated from human cases with localized



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- cutaneous leishmaniasis from the State of Campeche, Yucatan Peninsula, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 58(4), 444-447.
- Canto-Lara, S. B., Van Wynsberghe, N. R., Vargas-González, A., Ojeda-Farfán, F. F., & Andrade-Narváez, F. J. (1999). Use of monoclonal antibodies for the identification of *Leishmania* spp. isolated from humans and wild rodents in the State of Campeche, Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94(3), 305-309.
- Canto-Lara, S. B., Bote-Sánchez, M. D., Rebollar-Téllez, E. A., & Andrade-Narváez, F. J. (2007). Detection and identification of *Leishmania* kDNA in *Lutzomyia olmeca olmeca* and *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodidae) by polymerase chain reaction in Southern Mexico. *Entomological News*, 118(3), 217-223.
- Castillo-Ureta, H., Zazueta-Moreno, J. M., Rendón-Maldonado, J. G., Torres-Avendaño, J. I., López-Moreno, H. S., Olimón-Andalón, V., ... & Torres-Montoya, E. H. (2019). First report of autochthonous canine leishmaniasis caused by *Leishmania (L.) mexicana* in Sinaloa, Mexico. *Acta Tropica*, 190, 253-256.
- Chable-Santos, J. B., Van Wynsberghe, N. R., Canto-Lara, S. B., & Andrade-Narvaez, F. J. (1995). Isolation of *Leishmania (L.) mexicana* from wild rodents and their possible role in the transmission of localized cutaneous leishmaniasis in the state of Campeche, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 53(2), 141-145.
- Chaves, L. F., Hernandez, M. J., Dobson, A. P., & Pascual, M. (2007). Sources and sinks: revisiting the criteria for identifying reservoirs for American cutaneous leishmaniasis. *Trends in Parasitology*, 23(7), 311-316.
- Disney, R. H. L. (1968). Observations on a zoonosis: leishmaniasis in British Honduras. *Journal of Applied Ecology*, 1-59.
- Esquinca, R. R., Hernández, C. H. G., & Guevara, Á. (2005). Encuesta rápida de Leishmaniasis visceral en caninos en un área endémica en Chiapas. *REDVET*, 6(8), 1-7.
- Galati BEA. (1995). Phylogenetic systematic of *Phlebotominae* (Diptera: *Psychodidae*) with emphasis on American groups. *Bol. Malariol. y Sal. Amb.* 35(1):133-142.
- Galati EAB. (2016). Classificação, morfologia, terminologia e identificação de Adultos: Vol. 1. Bioecologia e Identificação de Phlebotominae. In: Rangel E.F., Lainson R., editors. *Flebotomíneos do Brasil*. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, p. 131.
- Garnham, P. C. C. (1959). The evolution of the zoonoses. *Med. Press*, 242, 251-6.
- Garnham, P. C. C., & Lewis, D. J. (1959). Parasites of British Honduras with special reference to leishmaniasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg*, 53(1), 12-35.
- Garnham, P. C. C. (1962). Cutaneous leishmaniasis in the New World with special reference to *Leishmania mexicana*. *Sci. Rep. 1st. Sup. Sanita.*, 2, 76-82.
- González Saldaña, N., Parra, M. M., López, N., Tsuji, Ó. V., & Beltrán, A. G. G. (2008). Caso clínico de un niño con leishmaniasis visceral en el que se sospechó síndrome mieloproliferativo. *Rev Enfer Infec Pediatr*, 21(85), 32-35.
- Grogl, M., Kreutzer, R. D., McHugh, C. P., & Martin, R. K. (1991). Characterization of a *Leishmania* isolate from the rodent host *Neotoma micropus* collected in Texas and comparison with human isolates. *Am J Trop Med Hyg*, 45(6), 714-722.
- Hernández-Montes, O., Monroy-Ostria, A., McCann, S., & Barker, D. C. (1998). Identification of Mexican *Leishmania* species by analysis of PCR amplified DNA. *Acta Tropica*, 71(2), 139-153.
- Hernández-Rivera, M. P., Hernández-Montes, O., Chiñas-Pérez, A., Batiza-Avelar, J. M., Sánchez-Tejeda, G., Wong-Ramírez, C., & Monroy-Ostria, A. (2015). Study of cutaneous leishmaniasis



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- in the State of Campeche (Yucatan Peninsula), Mexico, over a period of two years. *Salud Pública de México*, 57(1), 58-65.
- Kerr, S. F., McHugh, C. P., & Dronen Jr, N. O. (1995). Leishmaniasis in Texas: prevalence and seasonal transmission of *Leishmania mexicana* in *Neotoma micropus*. *Am J Trop Med Hyg*, 53(1), 73-77.
- Kerr, S. F., McHUGH, C. P., & Merkelz, R. (1999). a focus of *Leishmania mexicana* near Tucson, Arizona. *Am J Trop Med Hyg*, 61(3), 378-379.
- Killick-Kendrick, R. (1990). Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol*, 4(1), 1-24.
- Lewis DJ, Young DG, Fairchild GB, Minter DM. 1977. Proposals for a stable classification of the *Phlebotomine* sand flies (Diptera: *Psychodidae*). *Systematic Entomology*, 2(4):319-332.
- Longoni, S. S., Marín, C., Sauri-Arceo, C. H., López-Céspedes, A., Rodríguez-Vivas, R. I., Villegas, N., ... & Sánchez-Moreno, M. (2011). An iron-superoxide dismutase antigen-based serological screening of dogs indicates their potential role in the transmission of cutaneous leishmaniasis and trypanosomiasis in Yucatan, Mexico. *Vector-Borne Zoonot*, 11(7), 815-821.
- Longoni, S. S., López-Céspedes, A., Sánchez-Moreno, M., Bolio-González, M. E., Sauri-Arceo, C. H., Rodríguez-Vivas, R. I., & Marín, C. (2012). Detection of different *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 35(5), 469-476.
- López-Céspedes, A., Longoni, S. S., Sauri-Arceo, C. H., Sánchez-Moreno, M., Rodríguez-Vivas, R. I., Escobedo-Ortegón, F. J., ... & Marín, C. (2012). *Leishmania* spp. epidemiology of canine leishmaniasis in the Yucatan Peninsula. *The Scientific World Journal*, 2012.
- McHugh, C. P., Groggl, M., & Kerr, S. F. (1990). Isolation of *Leishmania mexicana* from *Neotoma micropus* collected in Texas. *The Journal of Parasitology*, 76(5), 741-742.
- McHugh, C. P., Thies, M. L., Melby, P. C., Yantis Jr, L. D., Raymond, R. W., Villegas, M. D., & Kerr, S. F. (2003). a disseminated infection of *Leishmania mexicana* in an eastern woodrat, *Neotoma floridana*, collected in Texas. *Am J Trop Med Hyg*, 69(5), 470-472.
- Monroy-Ostria, A., Hernandez-Montes, O., & Barker, D. C. (2000). Aetiology of visceral leishmaniasis in Mexico. *Acta Tropica*, 75(2), 155-161.
- Muñoz-García, C. I., Sánchez-Montes, S., Villanueva-García, C., Romero-Callejas, E., Díaz-López, H. M., Gordillo-Chávez, E. J., ... & Rendón-Franco, E. (2019). The role of sloths and anteaters as *Leishmania* spp. reservoirs: a review and a newly described natural infection of *Leishmania mexicana* in the northern anteater. *Parasitol Res*, 118(4), 1095-1101.
- Ochoa-Díaz, Y. O., López-Moreno, C. Y., Rendon-Maldonado, J. G., & López-Moreno, H. S. (2012). Molecular diagnosis of *Leishmania mexicana* in a cutaneous leishmaniasis case in Sinaloa, Mexico. *Vector-Borne Zoonot*, 12(1), 78-80.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2010). Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva. WHO technical report series 949:1-185.
- Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2000). Biodiversity series: the function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology*, 78(12), 2061-2078.
- Pastor-Santiago, J. A., Chávez-López, S., Guzmán-Bracho, C., Flisser, A., & Olivo-Díaz, A. (2012). American visceral leishmaniasis in Chiapas, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 86(1), 108-114.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Pech-May, A., Escobedo-Ortegón, F. J., Berzunza-Cruz, M., & Rebollar-Téllez, E. A. (2010). Incrimination of four sandfly species previously unrecognized as vectors of *Leishmania* parasites in Mexico. *Med Vet Entomol*, 24(2), 150-161.
- Pech-May, A., Peraza-Herrera, G., Moo-Llanes, D. A., Escobedo-Ortegón, J., Berzunza-Cruz, M., Becker-Fausser, I., ... & Rebollar-Téllez, E. A. (2016). Assessing the importance of four sandfly species (Diptera: *Psychodidae*) as vectors of *Leishmania mexicana* in Campeche, Mexico. *Med Vet Entomol*, 30(3), 310-320.
- Pérez-Vega, J. H., López-Moreno, C. Y., López-Valenzuela, J. Á., Rendón-Maldonado, J. G., & López-Moreno, H. S. (2009). Leishmaniasis cutánea causada por *Leishmania mexicana* en Durango, México. Informe del primer caso clínico. *Gac Med Mex*, 145(5), 433-435.
- Raymond, R. W., McHugh, C. P., Witt, L. R., & Kerr, S. F. (2003). Temporal and spatial distribution of *Leishmania mexicana* infections in a population of *Neotoma micropus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98(2), 171-180.
- Ready, P. D. (2013). Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annu Rev Entomol*, 58:227-50.
- Rebollar-Téllez, E. A., Ramírez-Fraire, A., & Andrade-Narvaez, F. J. (1996). A two years study on vectors of cutaneous leishmaniasis: Evidence for sylvatic transmission cycle in the State of Campeche, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 91(5), 555-560.
- Rodríguez-Rojas, J. J., Rodríguez-Moreno, Á., Berzunza-Cruz, M., Gutiérrez-Granados, G., Becker, I., Sánchez-Cordero, V., ... & Rebollar-Téllez, E. A. (2017). Ecology of phlebotomine sandflies and putative reservoir hosts of leishmaniasis in a border area in Northeastern Mexico: implications for the risk of transmission of *Leishmania mexicana* in Mexico and the USA. *Parasite*, 24.
- Romano-Mazzotti, L., Carreno-Manjarrez, R., Maldonado-Velázquez, R., & Gamboa-Marrufo, J. D. (2004). Leishmaniasis visceral: reporte de un caso. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 61(4), 341-347.
- Rosete-Ortíz, D., del Socorro Berzunza-Cruz, M., Salaiza-Suazo, N. L., González, C., Treviño-Garza, N., Ruiz-Remigio, A., ... & Rivas-Sánchez, B. (2011). Canine leishmaniasis in Mexico: the detection of a new focus of canine leishmaniasis in the state of Guerrero correlates with an increase of human cases. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 68(2), 88-93.
- Rovirosa-Hernández, M. D. J., Cortes-Ortíz, L., García-Orduña, F., Guzmán-Gómez, D., López-Monteon, A., Caba, M., & Ramos-Ligonio, A. (2013). Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana* in Free-Ranging Howler Monkeys in Southeastern Mexico. *Am. J. Primatol.*, 75(2), 161-169.
- Sánchez-García, L., Berzunza-Cruz, M., Becker-Fausser, I., & Rebollar-Téllez, E. A. (2010). Sand flies naturally infected by *Leishmania (L.) mexicana* in the peri-urban area of Chetumal city, Quintana Roo, México. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104(6), 406-411.
- Sanchez-Tejeda, G., Rodríguez, N., Parra, C. I., Hernández-Montes, O., C Barker, D., & Monroy-Ostria, A. (2001). Cutaneous leishmaniasis caused by members of *Leishmania braziliensis* complex in Nayarit, State of Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96(1), 15-19.
- Secretaria de Salud. 2019. Boletín Epidemiológico, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información, Dirección General de Epidemiología, Secretaria de Salud. <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia-boletin-epidemiologico>
- Seidelin, H. (1912). Leishmaniasis and babesiasis in Yucatán. *Ann Trop Med Parasit*, 6(2), 295-300.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Sosa-Ávila EJ, Caro-Lozano J, Zúñiga-Carrasco IR. (2014). Perfil epidemiológico de la leishmaniasis: una enfermedad olvidada en México. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 34(1):31-36.
- Van Wynsberghe NR, Canto-Lara SB, Damian-Centeno AG; Itzá-Ortiz MF, Andrade-Narvaez FJ. 2000. Retention of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in naturally infected rodents from the State of Campeche, Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 95(5):595-600.
- Van Wynsberghe, N. R., Canto-Lara, S. B., Sosa-Bibiano, E. I., Rivero-Cárdenas, N. A., & Andrade-Narváez, F. J. (2009). Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous leishmaniasis in the state of Campeche, Mexico. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 51(2), 87-94.
- Velasco-Castrejón O, Savarino S, Neva F, Guzmán-Bracho C. (1989). Los agentes etiológicos de la leishmaniasis en México. Presencia de *L. braziliensis*. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 31:231-234.
- Young, D. G., & Duran, M. A. (1994). Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Walter Reed Army Inst Of Research Washington Dc.
- Zamora-Ledesma, S., Hernández-Camacho, N., Villagrán-Herrera, M. E., Sánchez-Moreno, M., Concha-Valdez, F. G., Jones, R. W., ... & Camacho-Macías, B. (2016). Presence of trypanosomatid antibodies in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) and domestic and feral dogs (*Canis lupus familiaris*) in Queretaro, Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 5, 25-30.
- Zarza, H., Arias-Alzate, A., González-Maya, J. F., Chávez, C., & Ceballos, G. First record of Leishmaniasis in wild Jaguars (*Panthera onca*) from Mexico. *Sociedad Colombiana de Mastozoología*. 2015; 2(1): 11-12.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO NUEVO ENFOQUE EN EL ESTUDIO INTEGRAL DE LAS HELMINTIASIS

### CITOCINAS Y HORMONAS INVOLUCRADAS EN LA RESPUESTA DEL HOSPEDADOR A LA HEMONCOSIS OVINA

### CYTOKINES AND HORMONES INVOLVED IN THE HOST RESPONSE TO SHEEP HEMONCHOSIS

Muñoz-Guzmán MA,\* Cuenca-Verde C, Buendía-Jiménez JA, Alba-Hurtado F.  
Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.  
mmunoz74@hotmail.com

#### Resumen

El estudio de la respuesta inmune contra *H. contortus* es fundamental para entender los fenómenos de resistencia contra la hemoncosis ovina y para el desarrollo de nuevas estrategias para su control. La resistencia a la hemoncosis está relacionada a factores como la genética del hospedador lo cual explica la existencia de genotipos raciales con una relativamente alta resistencia. La expresión fenotípica de la resistencia puede atribuirse a mecanismos inespecíficos de defensa del hospedero entre los que se encuentran células como los mastocitos, leucocitos globulosos o mastocitos intraepiteliales y los eosinófilos. Estas células pueden mediar un ataque directo a la presencia de la larva mediante sustancias como histamina, leucotrienos y prostaglandinas además de producir algunas citocinas y quimioatrayentes que modulan la respuesta inflamatoria responsable de la expulsión rápida de las larvas. La respuesta adquirida depende de la presencia de algunas células como los linfocitos CD4 y linfocitos gama-delta en la mucosa abomasal. Generalmente la respuesta protectora contra la hemoncosis ha sido relacionada a un perfil de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-6), aunque hay evidencia de citocinas como IFN $\gamma$  e IL-2 pertenecientes al perfil Th1 que constantemente también han sido relacionadas a la respuesta contra la *H. contortus*, lo cual indica que la respuesta inmune a la hemoncosis no esta estrictamente polarizada. La protección inducida contra *H. contortus* lograda por la administración de un inmunomodulador derivado de *T. hydatigena* (CVMTh) se relacionó a la sobreexpresión de citocinas abomasales del perfil Th<sub>2</sub> y a la subexpresión de citocinas tipo Th<sub>1</sub>. Las larvas de *H. contortus* responden al estímulo *in vitro* de las hormonas PRL y PG. La PRL promueve el crecimiento de la larva mientras que la PG principalmente inhibe la muda de larvas 3. Se ha logrado identificar la presencia de receptores para ambas hormonas principalmente en el tubo digestivo de las larvas y se ha amplificado un fragmentos de los genes codificantes para ambos receptores hormonales en el DNA de larvas de *H. contortus*. Estos efectos *in vitro* pueden estar relacionados a los fenómenos de hipobiosis y reactivación larvaria en las hembras gestantes.

Financiado por PAPIIT-UNAM IN-218018.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Introducción

El control de la hemoncosis ovina en México aún está sustentado principalmente (en algunos casos únicamente) en la administración de tratamientos antihelmínticos, esto ha generado su utilización indiscriminada y consecuentemente el incremento de la resistencia a estos compuestos. La falta de eficacia de los tratamientos para el control parasitario es un problema grave debido a que aumenta las dificultades económicas para las condiciones productivas del país. Afortunadamente en la actualidad cada vez es más entendido por parte de los productores y veterinarios encargados de rebaños ovinos, la poca o nula eficiencia de los tratamientos antihelmínticos aislados y faltos de estrategia, por otro lado las tendencias mundiales en la reducción de residuos químicos en los alimentos para consumo humano (inocuidad), ha generado interés científico en la generación de alternativas de control que no dependan únicamente del control químico. Algunas de estas estrategias involucran 1) el desarrollo de vacunas e inmunomoduladores y 2) la selección de genotipos ovinos con resistencia a la infección. Para ambas estrategias es fundamental el estudio de la respuesta inmunológica al parásito y la comprensión de otros fenómenos de respuesta del hospedador a su presencia.

## Células y citocinas involucradas en la respuesta innata y resistencia natural a la hemoncosis ovina

Se conocen muchos genotipos ovinos con resistencia natural a la hemoncosis como son: Blackbelly, Florida, Saint Croix, Katahdin, Red Maasai, Nali, Nativa de Louisiana, Castellana, Nativa de Pakistan y Nativa de la Costa del Golfo entre otras. También es conocida la alta susceptibilidad de algunas razas como Merino, Dorper, Suffolk y Columbia entre otras (Alba-Hurtado and Muñoz-Guzmán, 2013). En animales jóvenes de genotipos resistentes, el control de la infección inicia rápidamente con la expulsión temprana de larvas en el abomaso mediado por un proceso inflamatorio agudo. Esta expulsión temprana se produce cuando la larva antes de internarse en su nicho (glándula abomasal) son atacadas por la acción de mastocitos, especialmente los del tipo intraepitelial conocidos como leucocitos globulosos (globule leucocyte), la hipermotilidad, la hipersecreción gástrica, la hiperplasia de células caliciformes y la eosinofilia timo-independiente. (Balic et al., 2002; Emery et al., 2016). En este sentido, nuestro grupo de investigación ha reportado un mayor aumento ( $p < 0.05$ ) de mastocitos y eosinófilos en la mucosa abomasal en corderos Blackbelly (genotipo resistente) en comparación a corderos Columbia (genotipo susceptible) en una infección experimental con *H. contortus* relacionado a una menor carga parasitaria desde las primeras semanas de la infección (Muñoz-Guzmán et al., 2006).

La expulsión inmediata del parásito está también asociada a la presencia en el moco abomasal, de histamina y sustancias de reacción lenta de la anafilaxia, como los leucotrienos y otras aun no caracterizadas que inhiben la motilidad de las larvas de nematodos in vitro (Douch et al., 1983; Meeusen et al., 2005). Los mastocitos liberan histamina preformada cuando son estimulados y liberan algunas proteasas como la tripsasa, la quimasa y la catepsina G. Estas células son atraídas en un inicio por moléculas derivadas de la reacción inflamatoria, tales como moléculas del complemento (C3a y C5a), el factor de activación plaquetaria (platelet activating factor PAF), la N-formil-metionil-fenilalanina, los leucotrienos, la eotaxina, el factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), las proteínas quimiotácticas para monocitos (MCP-1 y MCP-4), la IL-3 y la IL-8 (Falcone, et al., 2001). La histamina ha sido encontrada en mayor concentración en el moco abomasal de animales con resistencia natural a la hemoncosis, coadyuva directamente



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

a la expulsión del parásito promoviendo la hipersecreción e hipermotilidad del abomaso, afecta negativamente la fecundidad del gusano y su actividad motriz (Hohenhasus et al., 1998).

La eosinofilia, ocurre en los ovinos asociada a la infección por *H. contortus*, su relación con la protección contra la hemoncosis ha sido observada por diferentes autores. (Terefe et al., 2009; Castillo et al., 2011). En nuestros estudios sobre respuesta inmune a la hemoncosis ovina, la eosinofilia siempre se ha correlacionado negativamente con el número de huevos por gramo de heces lo cual se refleja en una menor carga parasitaria (Muñoz-Guzmán et al., 2006; Cuenca-Verde et al., 2011; Buendía-Jiménez et al., 2015). Los eosinófilos circulantes son reclutados al tejido abomasal durante la infección primaria y con posteriores desafíos con *H. contortus*, en donde de manera más rápida se congregan alrededor de la larva en el tejido. La hipótesis de que la función primaria de los eosinófilos es la defensa del hospedador contra helmintos, está basada en la acumulación de observaciones tales como la capacidad de los eosinófilos para degranularse y matar larvas *in vitro* en presencia de anticuerpos y o complemento, su capacidad de movilización desde la sangre a los tejidos y de agregación en el sitio de infección helmíntica, la asociación estrecha de eosinófilos con helmintos dañados *in vivo* y su capacidad de degranulación en la superficie del parásito (Balic et al., 2006).

Entre las principales moléculas efectoras que poseen los eosinófilos se encuentran la proteína básica principal (major basic protein MBP), las proteínas catiónicas (eosinophil *cationic protein* ECP) y la peroxidasa (*eosinophil peroxidase* EPO). Todas estas moléculas tienen acción tóxica directa contra larvas de *H. contortus*. Los eosinófilos también secretan mediadores lipídicos como leucotrienos, prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), factor de agregación plaquetaria (PAF) y lipoxinas, que promueven el aumento de la permeabilidad, la secreción de moco, la quimiotaxis y la coagulación. Además, su capacidad de producir citocinas como la IL-2, IL4, IL-10, IL-12, IL-16, IFN $\gamma$ , GM-SCF, TGF $\alpha$ , RANTES y eotaxina entre otras, indican una probable función reguladora de la respuesta inmune contra *H. contortus* (Behm y Ovingon, 2000).

Se ha demostrado la capacidad de los eosinófilos como células presentadoras de antígenos, particularmente en el caso de las infecciones helmínticas. Padigel *et al.* (2006) reportaron un aumento en la expresión de CD69, CD86 y MHC clase II en eosinófilos expuestos a antígenos de *Strongyloides stercoralis*, además estos eosinófilos fueron capaces de transformar *in vitro* linfocitos CD4+ indiferenciados a CD4+ Th2, con producción de IL-5. Lo anterior podría suceder en el caso de la infección por *H. contortus*.

En animales jóvenes, pertenecientes a genotipos con poca resistencia a la hemoncosis, los mecanismos antes mencionados parecen no ser activados de la misma forma que en los genotipos resistentes, en consecuencia, la infección primaria con *H. contortus* resulta en una infección con una elevada carga parasitaria que puede persistir por un tiempo considerable o incluso producir la muerte de animales muy susceptibles. No es hasta cuando hay subsecuentes exposiciones secundarias de estos animales conforme incrementa su edad, que se produce una respuesta inmunológica capaz de promover la expulsión de los gusanos establecidos, la falta de condiciones para la maduración de larvas a estadios adultos y la reducción de la carga parasitaria, sin embargo, aun con una respuesta establecida, estos animales no alcanzan el estado de resistencia natural de animales de razas o genotipos resistentes.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Células y citocinas involucradas en la respuesta adquirida a la hemoncosis ovina.

Se ha establecido en algunos tipos de linfocitos son requeridos para el estado de inmunidad a *H. contortus*. Una de las primeras observaciones de esto la reportaron Balic *et al.* (2000), quienes observaron un incremento significativo en las cuentas de linfocitos CD4+, gama-delta, linfocitos B y eosinófilos al desafiar animales con 50,000 L3 de *Haemonchus contortus* a los cinco días pos-infección. Por otro lado, se ha observado que la administración de anticuerpos monoclonales anti-CD4 a corderos Dorset/Columbia inmunizados contra *H. contortus*, les impidió expresar el estado de protección contra la infección experimental por lo que eliminaron altas cantidades de huevos en materia fecal, con cargas parasitarias elevadas en comparación a corderos solo inmunizados (Karanu *et al.*, 1997). Una observación similar fue hecha utilizando una raza ovina resistente a la hemoncosis (*Gulf Coast Native sheep*), se reportó aumento de la carga parasitaria de los animales que fueron tratados con un anticuerpo monoclonal anti-CD4 antes de la infección experimental con *H. contortus*, sin embargo no se establecieron diferencias entre el hematocrito, conteos de leucocitos o niveles de anticuerpos entre los animales tratados y no tratados con el anti-CD4 (Peña *et al.*, 2006). Nuestro grupo haciendo una evaluación comparativa entre dos razas ovinas con alta y baja susceptibilidad a la hemoncosis (Columbia y Blackbelly respectivamente) reportó una mayor ( $p < 0.05$ ) cantidad de linfocitos CD4 y gama-delta en la mucosa abomasal de los corderos Blackbelly en comparación a los corderos Columbia cuando fueron infectados con *H. contortus* (Muñoz-Guzmán *et al.*, 2012), ambas subpoblaciones correlacionaron negativamente con la carga parasitaria ( $r^2 = -0.88$  y  $-0.92$ ;  $p < 0.05$  respectivamente) lo que sugirió su participación tanto en la protección como en la resistencia contra la hemoncosis.

A pesar de que se carece de datos para establecer las vías Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> en rumiantes, muchas características de la infección por *H. contortus* podrían ser consideradas como respuestas típicas de la polarización de la respuesta hacia el perfil Th<sub>2</sub>, como la eosinofilia periférica o sanguínea, la hiperplasia de células cebadas en la mucosa abomasal y la respuesta por anticuerpos IgG1, IgA e IgE, particularmente esta última, en forma común se observa muy aumentada (Miller, 1996, Gill *et al.*, 2000). Nosotros observamos el incremento de IL-4, IL-5 e IL-6 en los cultivos linfocitarios de Corderos Columbia infectados con *H. contortus* después de siete semanas de infección (Sánchez-Paredes *et al.*, 2017) lo que indica que la respuesta tipo Th<sub>2</sub> es persistente.

Existe también evidencia de que las citocinas del perfil Th<sub>2</sub> juegan un papel importante en la protección contra *H. contortus*. Balic *et al.* (2002), establecieron que la IL-4, producida principalmente por mastocitos y GL, está fuertemente relacionada con el proceso de expulsión rápida de larvas, mientras que la IL-5, IL-13 y los eosinófilos están relacionados con la expulsión tardía. Las interleucinas son producidas en un inicio principalmente por los mastocitos (IL-4, IL-5 e IL-6) eosinófilos (IL-5, GM-CSF) y posiblemente por los linfocitos gama-delta (IL-4), la presencia local de altas cantidades, sobre todo de IL-4, probablemente induzca la polarización de los linfocitos CD4+ hacia el subtipo Th<sub>2</sub> (Alba-Hurtado and Muñoz-Guzmán, 2013). La expresión de RNAm codificador de diferentes citocinas asociadas a la infección por nematodos gastrointestinales o su relación con la resistencia a los mismos, ha sido observada por diferentes autores. En general, tanto la infección como la resistencia a *H. contortus* también se ha relacionado más a la sobreexpresión genética de citocinas de respuesta Th<sub>2</sub> (Zaros *et al.*, 2014). Recientemente, Estrada-Reyes *et al.* (2017), reportaron la sobreexpresión de IL-4, IL-8 e IL-10 en corderos de la raza resistente Pelibuey en respuesta a la infección con *H. contortus*, sin embargo, algunos estudios han encontrado asociación



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de infección/resistencia con la sobreexpresión de IFN $\gamma$  que es clave en la respuesta Th<sub>1</sub> (Meeusen *et al.*, 2005; McKinnon *et al.*, 2009), por lo que no existe absoluta claridad al respecto.

Incremento de la resistencia a la hemoncosis inducida por un concentrado vesicular de metacestodos de *Taenia hydatigena* (CVMTh)

Se ha observado que los componentes de diferentes metacestodos, como son *Taenia solium* o *Taenia crassiceps*, son capaces de modular la respuesta inmune de sus hospedadores, ya sea para estimularla o deprimirla (Tato *et al.*, 1996; Segura-Velázquez *et al.*, 2009; Dissanayake y Shahin, 2007). En este contexto, nuestro grupo ha estudiado los efectos de un extracto parasitario al que denominamos Concentrado Vesicular de metacestodos de *Taenia hydatigena* (CVMTh) sobre la respuesta inmune y la protección contra la hemoncosis ovina. En un primer estudio evaluamos el efecto de la inoculación del CVMTh sobre el establecimiento de una infección experimental de *H. contortus* en corderos. Los resultados mostraron que corderos inoculados con el CVMTh antes de la infección con *H. contortus* eliminaron una menor cantidad ( $p < 0.05$ ) de HGH en materia fecal, un menor número ( $p < 0.05$ ) de gusanos adultos en abomaso y tuvieron un mayor número ( $p < 0.05$ ) de eosinófilos circulantes comparado con corderos que no recibieron el CVMTh previo a la infección. La reducción en la carga parasitaria producida por el CVMTh fue del 68% (Cuenca-Verde, 2008; Cuenca-Verde *et al.*, 2011). Posteriormente en un segundo estudio, observamos nuevamente una reducción en la carga parasitaria (61%) comparado con corderos testigo inducida por el CVMTh, la cual estuvo relacionada con eosinofilia y con un mayor número ( $p < 0.05$ ) de células productoras de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 (Th<sub>2</sub>) e IFN $\gamma$  (Th<sub>1</sub>) en la mucosa abomasal de los corderos que recibieron el CVMTh previo a la infección con *H. contortus* (Buendía- Jimenez *et al.*, 2015). También observamos una mayor cantidad ( $p < 0.05$ ) de células productoras de IL-2 e IFN $\gamma$  en la submucosa abomasal; por el contrario, mayores cantidades de células productoras de IL-4 fueron encontradas en la mucosa abomasal, lo que sugirió que la respuesta local a la hemoncosis ovina no está estrictamente polarizada a una respuesta Th<sub>2</sub>. Los resultados sugirieron que la protección observada en ambos ensayos posiblemente se debe a un efecto inmunomodulador inducido por el CVMTh.

Para corroborar el posible efecto del CVMTh sobre la modulación de la respuesta, estudiamos la expresión genética relativa de algunas citocinas en el mismo modelo de ensayo de protección inducida. Observamos que el CVMTh produjo en corderos que sólo fueron infectados con *H. contortus* la sobreexpresión de IFN $\gamma$  (Th<sub>1</sub>), IL-4 e IL-6 (Th<sub>2</sub>) en la región fúndica abomasal (RFA) y la sobreexpresión de IL-2 (Th<sub>1</sub>), IL-4, IL-5 e IL-6 (Th<sub>2</sub>) en la región pilórica abomasal (RPA). En los corderos que recibieron CVMTh previo a la infección con *H. contortus*, observamos la sobreexpresión de IL-10 (Th<sub>2</sub>) en la RFA y de IL-8 (Th<sub>2</sub> y pro-inflamatoria) en la RPA al mismo tiempo que se promovió una menor expresión de IFN $\gamma$  (Th<sub>1</sub>) en la RFA y de IL-2 (Th<sub>1</sub>) en la RPA (Sánchez-Paredes, 2017). Meeusen *et al.* (2005), reportaron que el desafío con 50,000 L3 de *H. contortus* en corderos indujo la expresión tanto de IFN $\gamma$  e IL-2 (perfil Th<sub>1</sub>) como de IL-4 e IL-5 (perfil Th<sub>2</sub>). Por otro lado, McKinnon *et al.* (2009), reportaron la sobreexpresión de IL-2 y del receptor beta para IFN $\gamma$  en razas ovinas de pelo (Santa Cruz y Nativa de Barbados) resistentes a la hemoncosis.

El daño tisular causado por la presencia y acción de *H. contortus* en la mucosa abomasal produce la atracción de células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos y mastocitos) productoras de especies reactivas de oxígeno como parte de sus mecanismos de defensa contra el parásito. Las especies reactivas de oxígeno son inactivadas por mecanismos reguladores como las enzimas antioxidantes



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

*PRDX6* y *SOD1* en los ovinos (Estrada-Reyes *et al.*, 2017). Nuestros estudios han mostrado la sobreexpresión del gen *SOD1* en la RFA y RPA de los corderos a los que les fue administrado el CVTh previo a la infección con *H. contortus* (grupo 3) pero no en los corderos que solo fueron infectados (grupo 2) o a los que solo se les administró el CVTh (grupo 4). Además, en la RPA también se sobreexpresó IL-8 la cual es una citocina promotora de inflamación. Estos resultados sugieren que la administración del CVTh induce la activación de mecanismos protectivos en la mucosa abomasal contra el estrés oxidativo producido por la presencia de *H. contortus*, lo cual puede redundar en un efecto positivo y quizá en la protección inducida.

Los resultados de los estudios anteriores junto con los resultados obtenidos en el nuestros estudios, parecen indicar que la dicotomía Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> en la respuesta a la hemoncosis ovina no está estrictamente polarizada y que la administración del CVTh en corderos promueve una respuesta tipo Th<sub>2</sub> proinflamatoria al mismo tiempo que promueve la subregulación de citocinas del perfil Th<sub>1</sub> lo que podría explicar la protección inducida observada.

Efecto de las hormonas de la gestación sobre la infección por *H. contortus*.

Diversos reportes demuestran los efectos de hormonas de mamíferos sobre la regulación de funciones vitales de sus parásitos, este fenómeno ha sido llamado transregulación (Escobedo *et al.*, 2009). En este contexto, algunas hormonas puede tener efectos sobre la capacidad infectiva de algunos parásitos, lo cual afecta la susceptibilidad/resistencia del hospedero, por ejemplo, el tratamiento con estradiol aumenta al doble la capacidad infectiva de cisticercos de *T. crassiceps* mientras que el tratamiento con PG (antagónica de los estrógenos) protege a los ratones de infecciones por *T. crassiceps* (Vargas-Villavicencio *et al.*, 2006). En el caso de *Haemonchus contortus* la asociación entre el estado fisiológico-reproductivo del hospedador y el comportamiento biológico del parásito resulta un punto interesante de estudio.

Por factores no conocidos completamente, algunas L4, detienen su desarrollo en la pared abomasal y permanecen en estado de latencia en un fenómeno conocido como hipobiosis. Después de meses o incluso años de permanecer hipobióticas, las larvas pueden reactivarse y continuar su desarrollo, llegar a la fase adulta y cerrar su ciclo de vida. No son completamente claros los factores relacionados a la reactivación larvaria, sin embargo en las hembras ovinas gestantes, una cantidad importante de las larvas hipobióticas se reactivan durante la parte final de la gestación, lo cual produce un aumento en la carga parasitaria por fases adultas y en consecuencia el aumento en la eliminación de huevos en heces que empieza 4 semanas antes y llega a su punto más alto a las 8 semanas después del parto, este fenómeno es conocido como “alza postparto” o “alza de primavera”. El periodo en el que se da la mayor reactivación larvaria en la hembra gestante, coincide un aumento significativo de los niveles séricos de prolactina (PRL), por lo que se planteó la posibilidad de que esta hormona puede estar relacionada a la reactivación de larvas y al aumento de la fertilidad en las hembras adultas de *H. contortus*. En este sentido, Fleming and Conrad, (1993) reportaron una mayor eliminación de huevos de *H. contortus* en las heces de hembras Dorset tras la administración de prolactina (20 UI) en comparación a un grupo de hembras testigo.

Las observaciones antes mencionadas ofrecieron evidencia indirecta que sugirió fuertemente la influencia de la PRL sobre el comportamiento de larvas de *H. contortus* en el hospedador, sin embargo por algún tiempo no se contó con evidencia del efecto directo de la hormona sobre el



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

parásito. Recientemente, nuestro grupo de trabajo midió los efectos *in vitro* de la PRL sobre larvas de *H. contortus*. En dichos estudios observamos que la estimulación *in vitro* con 80 y 200 ng/mL de la hormona produjo un aumento de tamaño moderado de las larvas. Además por citometría de flujo se determinó que al menos un 4.37% de las células de la larva fueron positivas para un posible receptor de PRL lo cual resulta fundamental para el reconocimiento y respuesta a la presencia de la hormona. (Gutiérrez-Amézquita, 2018). Por PCR se confirmó la presencia de un fragmento del gen del receptor de PRL y se logró inmunolocalizar por microscopía confocal la presencia de receptores principalmente en el tubo digestivo de la larva. Estas observaciones parecen no dejar duda de la capacidad de la PRL para estimular en forma directa larvas de *H. contortus* y refuerzan la hipótesis sobre el papel de esta hormona en los procesos de reactivación larvaria en las hembras cercanas al parto.

La progesterona (PG) es otra hormona que también registra cambios importantes en la gestación por lo que es posible que pudiera estar involucrada en el fenómeno de alza de primavera. Siguiendo esta hipótesis, también pudimos observar por PCR y citometría de flujo, que las larvas de *H. contortus* tiene receptores para PG distribuidos principalmente en células del tubo digestivo, sin embargo encontramos que la estimulación *in vitro* de larvas de *H. contortus* con PG tiene como principal efecto la inhibición de su capacidad de muda, lo cual podría estar relacionado a los fenómenos de arresto larvario más que a la reactivación (Gutierrez-Amezquita et al., 2017). La PG a diferencia de la PRL alcanza sus niveles máximos en la etapa inicial de la gestación. Si consideramos que en razas ovinas estacionales el inicio de la gestación coincide con el inicio de la época seca o invernal, se podría considerar la hipótesis de que la PG forma parte de los estímulos dentro del hospedador que recibe la larva para la inducción de la hipobiosis. De esta manera tanto la hipobiosis como la reactivación larvaria de *H. contortus* podrían estar relacionados al microambiente hormonal (PG y PRL) en las hembras gestantes. Actualmente es el estudio de las redes neuroinmunoendocrinas han identificado cada vez más claramente el efecto regulador del sistema endócrino sobre el sistema inmunológico por lo que finalmente debe de considerarse la existencia de posibles efectos de ambas hormonas sobre la regulación de la respuesta inmune a la hemonciosis ovina.

### Conclusiones

La resistencia a la hemonciosis ovina está relacionada a la genética del hospedador lo cual explica la existencia de genotipos raciales resistentes. La expresión fenotípica de la resistencia está relacionada con células inespecíficas de defensa (mastocitos tisulares, mastocitos intraepiteliales y eosinófilos) y sustancias como histamina, leucotrienos, quimioatrayentes y citocinas moduladores de la respuesta inflamatoria responsable de la expulsión rápida de las larvas. En la respuesta adquirida los linfocitos T CD4+ son centrales, además de la presencia de linfocitos gama-delta. La respuesta protectora contra la hemonciosis ha sido relacionada a un perfil de citocinas Th<sub>2</sub> (IL-4, IL-5 e IL-6), y en algunos casos con IFN $\gamma$  e IL-2 pertenecientes al perfil Th<sub>1</sub>. Se ha logrado inducir protección contra *H. contortus* por la administración de un inmunomodulador derivado de *T. hydatigena* (CVMTh), esta protección se relacionó a la sobreexpresión de citocinas abomasales del perfil Th<sub>2</sub> y a la subexpresión de citocinas tipo Th<sub>1</sub>. Las larvas de *H. contortus* responden al estímulo *in vitro* de las hormonas PRL y PG y tienen receptores para ambas hormonas en el tubo digestivo. Los efectos *in vitro* de ambas hormonas pueden estar relacionados a los fenómenos de hipobiosis y reactivación larvaria que ocurren *in vivo* en las hembras gestantes.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Agradecimientos

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IN-218018

## Referencias bibliográficas

- Alba-Hurtado, F., and Muñoz-Guzmán, M.A. 2013. Immune Responses Associated with Resistance to *Haemonchosis* in Sheep. *BioMed Res. Int.* 2013.
- 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., Bowles, V.M., Meeusen E.N.T. 2000. Cellular profiles in the mucosa and lymph node during primary infection with *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 75, 109-120.
- 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.
- Behm, C.A., Ovington, K.S. 2000. The role of eosinophils in parasitic helminthes infections: Insights from genetically modified mice. *Parasitol. Today* 16, 202-209.
- Buendía-Jiménez, J.A., Muñoz-Guzmán, M.A., Vega-López, M.A., Cuenca-Verde, C., Martínez-Labat, J.A., Cuéllar-Ordaz, J.A., Alba-Hurtado, F. 2015. Partial protection and abomasal cytokine expression in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* and pre-treated with *Taenia hydatigena* vesicular concentrate. *Vet. Parasitol.* 211, 60-66.
- Castillo, J.A. F., Medina, R.D.M., Villalobos, J.M.B., Gayosso-Vázquez, A., Ulloa-Arvizu, R., Rodríguez, R.A., Morales, R.A.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.
- Cuenca-Verde, C., Buendía-Jiménez, J.A., Valdivia-Anda, G., Cuéllar-Ordaz, J.A., Muñoz-Guzmán, M.A., Alba-Hurtado, F. 2011. Decrease in establishment of *Haemonchus contortus* caused by inoculation of a *Taenia hydatigena* larvae vesicular concéntrate. *Vet. Parasitol.* 177, 332-338.
- Dissanayake, S., Shahin, A., 2007. Induction of interferon-gamma by *Taenia crassiceps* glycans and Lewis sugars in naive BALB/c spleen and peritoneal exudate cells. *Molecular Immunol.* 44, 1623-1630.
- Douch, P.C.G., Harrison, G.B.L., Buchanan, L.L. and Green, K.S. 1983. In vitro bioassay of sheep gastrointestinal mucus for nematode paralyzing activity mediated by substances with some properties characteristic of SRS-A. *Int. J. Parasitol.* 13, 207-212.
- Emery, D.L., Hunt, P.W., Le Jambre, L.F. 2016. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here?. *International J. parasitol.* 46, 755-769.
- Escobedo, G., López-Griego, L., Morales-Montor, J. 2009. Neuroimmunoendocrine modulation in the host by helminth parasites: a novel form of host-parasite coevolution?. *Neuroimmunomodulation*, 16, 78-87.
- Estrada-Reyes, Z., López-Arellano, M.E., Torres-Acosta, F., López-Reyes, A., Lagunas-Martínez, A., Mendoza-de-Gives, P., González-Garduño, R., Olarzá- Jenkins, S., Reyes-Guerrero, D., Ramirez-Vargas, G. 2017. Cytokine and antioxidant gene profiles from peripheral blood mononuclear cells of Pelibuey lambs after *Haemonchus contortus* infection. *Parasite. Immunol.* 39, 12427.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Falcone, F.H., Pritchard, D.I. Gibbs, B.F. 2001. Do basophils play a role in immunity against parasites?. *TRENDS Parasitol.* 17, 126-129.
- Fleming MW, Conrad SD. 1989. Effects of exogenous progesterone and/or prolactin on *Haemonchus contortus* infections in ovariectomized ewes. *Vet Parasitol.* 34, 57-62.
- 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.
- Gill, H.S., Watson, D.L., Brandon, M.R. 1993. Monoclonal antibody to CD4+ T cells abrogates genetic resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Immunology* 78, 43-49.
- Gutiérrez-Amézquita R.A. 2018. Identificación de receptores para estrógenos, prolactina y progesterona en larvas de *Haemonchus contortus*. Tesis de Doctorado en Ciencias de la Producción y Salud Animal, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gutiérrez-Amézquita, R.A., Morales-Montor, J., Muñoz-Guzmán, M.A., Nava-Castro, K.E., Ramírez-Álvarez, H., Cuenca-Verde, C., Alba-Hurtado, F. 2017. Progesterone inhibits the in vitro L3/L4 molting process in *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 248, 48-53.
- Hohenhaus, M.A., Josey, M.J., Dobson, C., Outteridge, P.M. 1998. The eosinophil leukocyte, a phenotypic marker of resistance to nematodes parasites, is associated with calm behaviour in sheep. *Immunol. Cell Biol.* 76, 153-158.
- Karanu, F.N., McGuire, T.C., Davis, W.C., Besser, T.E., Jasmer, D.P. 1997. CD4+ T lymphocytes contribute to protective immunity induced in sheep and goats by *Haemonchus contortus* gut antigens. *Parasite Immunol.* 19, 435-445.
- MacKinnon, K.M., Burton, J.L., Zajac, A.M., Notter, D.R. 2009. Microarray analysis reveals difference in gene expression profiles of hair and wool sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 130, 210-220.
- Meeusen, E.N.T., Balic, A., Bowles, V. 2005. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematodes parasites. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108, 121-125.
- 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.
- Muñoz-Guzmán, M.A., Cuéllar-Ordaz, J.A., Valdivia-Anda, G., Buendía-Jimenez, J.A., Alba-Hurtado, F., 2006. Correlation of parasitological and immunological parameters in sheep with high and low resistance to haemoncosis. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 363-371.
- Muñoz-Guzmán, M. A., Cuenca-Verde, C., Valdivia-Anda, G., Cuéllar-Ordaz, J. A., Alba-Hurtado, F. 2012. Differential immune response between fundic and pyloric abomasal regions upon experimental ovine infection with *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 185, 175-180.
- Padigel, U.M., Lee, J.J., Nolan, T. J., Schad, G. A., Abraham D. 2006. Eosinophils can function as antigen-presenting cells to induce primary and secondary immune response to *Strongyloides stercoralis*. *Infec. Immun.* 74, 3232-3238.
- Peña, M.T., Miller, J.E., Horohov, D.W. 2006. Effect of CD4+ lymphocyte depletion on resistance of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. *Vet. Parasitol.* 138, 240-246.
- Sánchez-Paredes A., Mercado-Márquez C., Cuenca-Verde C., Buendía-Jiménez J.A., Ramírez-Vargas G., López-Arellano M.E., Alba-Hurtado F., Muñoz-Guzmán M.A. 2017. Expresión de citocinas abomasales en corderos protegidos con un concentrado vesicular de *Taenia hydatigena* contra *Haemonchus contortus*. *Memorias del X Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios, Puebla Pue.*
- Tato, P., White, A.C., Willms, K., Rodríguez, D., Solano, S., Sepúlveda, J., Molinari, J.L., 1996. Immunosuppression and inhibition of inflammation in mice induced by a small *Taenia solium* RNA-peptide to implanted *T. solium* metacestodes. *Parasitol. Res.* 82, 590-597.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Terefe, G., Lacroux, C., Prévot, F., Grisez, C., Bergeaud, J. P., Bleuart, C., Jacquet, P. 2009. Eosinophils in *Haemonchus contortus*-infected resistant and susceptible breeds of sheep: abomasal tissue recruitment and in vitro functional state. *Vet. Parasitol.* 165, 161-164.
- Vargas-Villavicencio, J.A., Larralde, C., Morales-Montor, J., 2006. Gonadectomy and progesterone treatment induce protection in murine cysticercosis. *Parasite immunol.* 28, 667-674.
- Zaros, L.G., Neves, M.R.M., Benvenuti, C.L., Navarro, A.M.C., Sider, L.H., Coutinho, L.L., Vieira, L.S. 2014. Response of resistant and susceptible Brazilian Somalis crossbreed sheep naturally infected by *Haemonchus contortus*. *Parasitol. Res.* 113, 1155-1161.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## LA INTERACCIÓN INMUNOENDOCRINOLÓGICA Y SU RELACIÓN CON LAS INFECCIONES PARASITARIAS

Dr. José Hugo Aguilar Díaz

Los parásitos comprenden un grupo de organismos que representan un serio problema en salud pública humana y en animales de importancia veterinaria. Por sus diversos ciclos de vida, los parásitos son uno de las principales causas de mortalidad y morbilidad en el mundo, siendo perjudiciales para el progreso económico y desarrollo mundial.

Dentro de la interacción biológica hospedero-parásito, uno de los principales componentes, es la diferencia que existe entre el sexo, la susceptibilidad y severidad de la infección. Durante décadas, la regla general dictaba que las hembras mostraban mayor resistencia a las enfermedades infecciosas que los machos (Nacher et al. 2003; Nava-Castro et al. 2012). No obstante, actualmente se sabe que existen excepciones notables a esta regla (Poulin, et al. 1996). En la mayoría de los hospederos, el dimorfismo sexual implicado en la respuesta a los parásitos, esta mediado principalmente por el sistema neuroinmunoendócrino, el cual, es capaz de mantener una estrecha comunicación a través de diversas moléculas como interleucinas, quimiocinas, neuropéptidos, y hormonas, que, en conjunto, mantienen la homeostasis del organismo y brindan una respuesta eficaz, contra diversos patógenos (Nava-Castro et al. 2012, Escobedo et al. 2005). En este sentido, las hormonas juegan un papel trascendental en el control y curso de la infección parasitaria. Mediante la modulación de diferentes componentes de las respuestas inmunes innatas y adaptativas. En respuesta, los parásitos son capaces de adaptarse a condiciones hostiles mediante el desarrollo de numerosas estrategias para evadir la respuesta inmune protectora, como la variación antigénica, el mimetismo molecular, o bien, afectando el procesamiento y presentación de antígenos entre otros (Escobedo, et al. 2005). Adicionalmente, los parásitos son capaces de regular el comportamiento y metabolismo de su hospedero en beneficio de su establecimiento, crecimiento y reproducción (Escobedo, et al 2005). En relación, la influencia directa de las hormonas sobre estos agentes infecciosos, puede ser mediada a través de mecanismos genómicos que involucran por la activación de receptores intracelulares específicos que funcionan como factores de transcripción activados por ligando, y/o, a través de mecanismos no genómicos, donde la hormona interactúa con receptores presentes en la superficie celular regulando diversas vías de señalización (Escobedo, et al. 2004). Esta interacción, ha resultado en la capacidad de muchos parásitos de sintetizar proteínas similares a estos receptores hormonales, que funcionan de manera análoga y que pueden afectar positiva o negativamente el curso de la infección (Ibarra-Coronado, et al. 2011, Taubert, et al. 2011). En términos generales, sabemos que el papel primordial de los esteroides sexuales como la progesterona, la testosterona y los estrógenos, es regular el crecimiento, la diferenciación, supervivencia y ciclo de las células, no obstante, algunos reportes sugieren que estas hormonas podrían ejercer un efecto directo sobre algunos parásitos a través de receptores intra y extracelulares. Durante las infecciones por helmintos, se ha demostrado una relación recíproca que existe entre algunos esteroides sexuales, el sistema inmune y la posible eliminación o establecimiento del parásito en el humano. En algunos casos las hormonas pueden regular la respuesta inmune innata y la subsecuente respuesta inmune adaptativa. A nivel experimental, algunos grupos han demostrado que el cultivo *in vitro* de cisticercos de la *Taenia solium* en presencia de esteroides sexuales como la P4 (progesterona), induce la evaginación del cisticerco en el 100% de los parásitos tratados, mientras que la T4 (testosterona) y la DHEA (dehidroepiandrosterona), poseen el efecto contrario, disminuyendo este proceso en el 85 y 90% (Escobedo et al., 2010, Hernández-Bello, 2013). En contraste, cuando se usa un antagonista competitivo de P4 (RU486), que tiene la propiedad de unirse al receptor clásico de dicho



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

esteroide inhibiendo su función transcripcional, bloquea la evaginación de todos los cisticercos tratados (Escobedo et al. 2010). Cabe resaltar, que el uso de un antagonista de andrógenos (la flutamida), no revierte el efecto de T4 ni de la DHEA (Hernández-Bello, 2013). Estos resultados sugieren que el proceso de evaginación en el cisticerco, podría estar mediado por la presencia de un receptor a progesterona presente en el parasitario que actúa de manera específica (Escobedo et al., 2010). Dichos hallazgos, resultan de suma importancia ya que apoyan la idea del efecto de los esteroides sexuales sobre la evaginación del cisticerco de la *T. solium*, proceso crucial en el ciclo de vida del parásito. Otro ejemplo, es el efecto del 17- $\beta$ -estradiol (E2) sobre el cisticerco de *Taenia crassiceps*, donde la hormona es capaz de inducir la gemación parasitaria y producir un aumento en la capacidad infectiva hasta en un 200% (Escobedo et al. 2004). Este efecto lo lleva a cabo a través de una variedad del receptor a estrógenos que además es capaz de promover la expresión de *c-fos* y *c-jun* (miembros del complejo transcripcional AP-1), sugiriendo su participación directa en los efectos proliferativos que el E2 ejerce sobre el parásito (Escobedo et al 2004; Morales-Montor et al., 2004). Otros estudios, han demostrado el efecto *in vitro* de la DHEA sobre diversos estadios del parásito *Schistosoma mansoni*, donde se demuestra un efecto antiparasitario con mortalidad de hasta un 100% de cercarias y con una marcada disminución en la oviposición del gusano adulto (Morales-Montor et al., 2001(a) y 2001(b)). En el caso de *Schistosoma haematobium*, el tratamiento con testosterona, induce una disminución en la capacidad reproductiva de la forma adulta por medio de una reducción en la fecundidad (Remoué et al. 2002). En relación, se ha descrito un efecto estimulante *in vitro* del factor de crecimiento epidérmico murino (EGF), sobre el crecimiento, el desarrollo y la maduración de microfilarias de *Brugia malayi* (Dissanayake 2000). Estos reportes sugieren que algunos helmintos parásitos de humanos, han adquirido la capacidad de desarrollar estructuras moleculares análogas a los receptores clásicos de hormonas e inclusive en algunos casos, con funciones similares a las presentes en los mamíferos (Gómez 2000).

A nivel inmunológico, en las infecciones por helmintos, la protección depende del desarrollo de una respuesta Th2 que involucra IL-4 e IL-13, y frecuentemente, en las infecciones intestinales, las hembras son más resistentes que los machos. Un ejemplo, es el de *Strongyloides ratti*, donde la gonadectomía de los machos, reduce significativamente las cargas parasitarias. En contraste, la ovariectomía, no causa ningún efecto, sugiriendo que, en esta infección, el aumento en la susceptibilidad puede ser resultado directo de la presencia de andrógenos, antagónica a la presencia de estrógenos. Interesantemente, la inclusión de testosterona en las hembras ovariectomizadas, aumenta la carga parasitaria en el intestino (Kiyota, et al. 1984). En la infección por el parásito intestinal *Trichuris muris*, se ha demostrado como las hormonas sexuales femeninas, influyen en la actividad de los mastocitos favoreciendo la expulsión de los nematodos intestinales (Hepworth, et al 2010).

Actualmente cobra gran importancia el estudio de las interacciones inmunoendocrinas durante las infecciones parasitarias en la comprensión de los mecanismos involucrados en establecimiento, crecimiento y reproducción de un parásito en el hospedero humano. El conocimiento de esta compleja relación, puede tener implicaciones en el control de la transmisión y el tratamiento de diversas infecciones. Los elementos fisiológicos esenciales en la red de interacciones inmunoendocrinas que se presentan durante el parasitismo, poseen un gran impacto biológico y fisiopatológico, que podrán ayudar en el diseño de vacunas y nuevos fármacos anti-parasitarios, así como en el control de diversas parasitosis tanto humanas como veterinarias y en el desarrollo de nuevas terapias para enfermedades autoinmunes.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

1. Nacher M, Singhasivanon P, Treeprasertsuk S, Silamchamroon U, Phumratanaprapin W, et al. (2003) Gender differences in the prevalences of human infection with intestinal helminths on the Thai-Burmese border. *Ann Trop Med Parasitol* 97: 433-435.
2. Nava-Castro K, Hernández-Bello R, Muñiz-Hernández S, Camacho-Arroyo I, Morales-Montor J (2012) Sex steroids, immune system, and parasitic infections: facts and hypotheses. *Ann N Y Acad Sci* 1262: 16-26.
3. Poulin R (1996) Helminth growth in vertebrate hosts: does host sex matter? *Int J Parasitol* 26: 1311-1315.
4. Escobedo G, Roberts CW, Carrero JC, Morales-Montor J (2005) Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation? *Trends Parasitol* 21: 588-593.
5. Escobedo G, Larralde C, Chavarria A, Cerbón MA, Morales-Montor J (2004) Molecular mechanisms involved in the differential effects of sex steroids on the reproduction and infectivity of *Taenia crassiceps*. *J Parasitol* 90: 1235-1244.
6. Ibarra-Coronado EG, Escobedo G, Nava-Castro K, Jesus Ramses CR, Hernandez-Bello R, et al. (2011) A helminth cestode parasite express an estrogen-binding protein resembling a classic nuclear estrogen receptor. *Steroids* 76: 1149-1159.
7. Taubert S, Ward JD, Yamamoto KR (2011) Nuclear hormone receptors in nematodes: evolution and function. *Mol Cell Endocrinol* 334: 49-55.
8. Escobedo G., Camacho-Arroyo I., Hernández-Hernández T., Ostoa-Saloma P., García-Varela M., and Morales-Montor J. 2010. Progesterone Induces Scolex Evagination of the Human Parasite *Taenia solium*: Evolutionary Implications to the Host-Parasite Relationship *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Volume: 2010, ID 591079.
9. Hernández-Bello R, Escobedo G, Carrero JC, Cervantes-Rebolledo C, Dowding C, Frincke J, Reading C, Morales-Montor J. A new parasitocidal compound in *T. solium* cysticercosis. *Biomed Res Int*. 2013, ID 505240.
10. Morales-Montor J, Escobedo G, Rodriguez-Dorantes M, Téllez-Ascencio N, Cerbón MA, Larralde C. 2004. Differential expression of AP-1 transcription factor genes c-fos and c-jun in the helminth parasites *Taenia crassiceps* and *Taenia solium*. *Parasitology*. 129(Pt 2):233-43.
11. Morales-Montor J, Mohamed F, Ghaleb AM, Baig S, Hallal-Calleros C, Damian RT. 2001(a). In vitro effects of hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) hormones on *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol*. 2001, 87(5):1132-9.
12. Morales-Montor J, Newhouse E, Mohamed F, Baghdadi A, Damian RT. 2001 (b). Altered levels of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis hormones in baboons and mice during the course of infection with *Schistosoma mansoni*. *J Infect Dis*. 15;183(2):313-320.
13. Remoué F, Mani JC, Pugnière M, Schacht AM, Capron A, Riveau G. 2002. Functional specific binding of testosterone to *Schistosoma haematobium* 28-kilodalton glutathione S-transferase. *Infect Immun*. 70(2):601-5.
14. Dissanayake S. Upregulation of a raf kinase and a DP-1 family transcription factor in epidermal growth factor (EGF) stimulated filarial parasites. *Int J Parasitol*. 30(10):1089-9.
15. Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Jun;1024:138-46. Review.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

16. Gómez Y., Valdez RA., Larralde C., Romano MC. 2000. Sex steroids and parasitims: *Taenia crassiceps* cisticercus metabolizes exogenous androstenedione to testosterone in vitro. J Steroids Biochem Mol Biol. 74:143-147.
17. Kiyota M, Korenaga M, Nawa Y, Kotani M (1984) Effect of androgen on the expression of the sex difference in susceptibility to infection with *Strongyloides* Kiyota M, Korenaga M, Nawa Y, Kotani M (1984) Effect of androgen on the expression of the sex difference in susceptibility to infection with *Strongyloides*
18. Hepworth MR, Hardman MJ, Grecis RK (2010) The role of sex hormones in the development of Th2 immunity in a gender-biased model of *Trichuris muris* infection. Eur J Immunol 40: 406-416.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## FASCIOLICIDAS BENCIMIDAZÓLICOS INYECTABLES COMO ALTERNATIVA DE CONTROL EN LA FASCIOSIS DEL GANADO

Froylán Ibarra Velarde y Yolanda Vera Montenegro

Departamento de Parasitología, UNAM, México, DF 04510,  
ibarraf@unam.mx, 01 55 56 22 58 99.

La fasciolosis es la parasitosis hepática más importante de los bovinos y ovinos, la cual es debida a la acción y presencia del trematodo del hígado *Fasciola hepatica* (Taylor, *et.al.*, 2016). Este parásito se distribuye en todos los continentes e infecta a gran cantidad de mamíferos, incluyendo al ser humano a través de la ingesta de plantas y vegetales contaminados con la larva del parásito (Martínez, *et.al.*, 2012).

Su importancia radica en cuantiosas pérdidas económicas, tales como baja en la producción de carne y leche, mala producción de la lana, anemias, infertilidad, abortos, decomiso de hígados y ocasionalmente la muerte, además de gastos por uso de fasciolicidas y servicios veterinarios por tratamiento de animales (Gil, *et.al.*, 2014; Flores, *et.al.*, 2014). En México, esta parasitosis se ha diagnosticado en 29 Estados (Ibarra, *et.al.*, 2011), y se han estimado pérdidas anuales de más de 130 millones de dólares en la industria ganadera, asociadas a los efectos de la fasciolosis en bovinos de carne y de leche (Rodríguez, *et.al.*, 2017).

Para realizar el llamado “Control Integral” contra esta parasitosis, existen tres formas mundialmente reconocidas:

1. Reducción de la parasitosis utilizando medidas de Manejo tales como:
  - Rotación de potreros después de un tratamiento.
  - Delimitar áreas contaminadas con caracoles y metacercarias
  - Evitar que pasten ovinos con bovinos
  - Ensilado de pasturas.
  - Buena alimentación del ganado.
  - Construir bebederos para evitar que el ganado tome agua con charcas infectadas con metacercarias .

2. Tratamiento del Huésped Intermediario.- Se ejerce mediante el uso de molusquicidas.

Este sistema en México ha sido utilizado en muy pocas ocasiones, ya que se desconoce si los molusquicidas empleados pueden afectar la ecología. Por otro lado, solamente la N-tritil-morfolina (Shiff, 1966), se ha recomendado como altamente eficiente para matar caracoles pero el producto llamado “Frescon” lo venden en Holanda y al ser de importación resulta bastante costoso.

Importa señalar que los Ecologistas y Ambientalistas muestran gran reluctancia al uso de estos productos molusquicidas ya que no solo se matan caracoles intermediarios de fasciola y por otro lado se desconoce el grado en que se puede alterar la ecología.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### 3. Tratamiento del Huésped definitivo. -

Durante décadas la quimioterapia tanto en México como a nivel mundial, ha sido la forma habitual de control de la fasciolosis en virtud de haber demostrado ser hasta el momento el método más eficaz para remover los parásitos cuando estos se encuentran en el huésped definitivo.

Por tal razón la Industria Farmacéutica ha desarrollado y lanzado al mercado un considerable número de fasciolicidas los cuales han mostrado eficacia de mayor o menor grado contra las diferentes edades de fasciola. La mayoría de estos productos están incluidos dentro de los siguientes grupos químicos.

GRUPO QUÍMICO	PRINCIPIOS ACTIVOS Y NOMBRE COMERCIAL
<b>Fenoles halogenados</b>	Bithionol (Bitin, Actamer), Hexaclorofeno (antes Bilevon, ahora obsoleto), Niclofolan (Bilevon), nitroxinil (Trodax)
<b>Salicilanilidas</b>	Brotianide (dirian), Closantel (Flukiver, Seponver, Supaverm, Cosicare), Oxiclozanida (Nilzan, Zaniil), Rafoxanida (Flukanide, Ranizole).
<b>Bencimidazoles</b>	Albendazol (Valbazen), Mebendazol (Telmin, Vermox, Supaverm), Triclabendazol (Fasinex), Luxabendazole (Fluxacur).
<b>Sulfonamidas</b>	Clorsulón (Curatrem, Ivomec F, Ivomec Plus).

Fairweather I., Boray J. C. *Vet. J.* **1999**, 158, 81-112.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Para mayor comprensión, el siguiente cuadro muestra información sobre el espectro de eficacia de estos fármacos:

### Espectro de eficacia de los fármacos empleados para el tratamiento de la fasciolosis

Fármaco	Edad de la <i>F. hepatica</i> en semanas. % de reducción													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Bitinol, Hexaclorofeno										50-70		80-99		
Oxiclosanide, Niclofolán										50-70		80-99		
Albendazol										50-70		80-99		
Clorsulón +Ivermectina										50-70		80-99		
Clorsulón							90-99							
Nitroxinil, Closantel							50-90		91-99					
Rafoxanida					50-90		91-99							
Triclabendazol			99-100											
Diamfenetida				91-100				80-50						

Fairweather I., Boray J. C. *Vet. J.* 1999, 158, 81-112.

Con el paso de los años el triclabendazol ha mostrado ser el compuesto más socorrido en virtud de su capacidad para remover tanto en las etapas juveniles, como en las adultas de *F. hepatica* (Dalton, 1999; Eckert *et.al.*, 1984).

Una ventaja adicional de este compuesto es que desde 1989, es el único fasciolicida aprobado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para uso en humanos, y ha sido utilizado para combatir la gran epidemia de fasciolosis presente en Irán (Savioli, *et.al.*, 1999). Por tales razones, el triclabendazol sigue siendo el fármaco de elección para el tratamiento de la fasciolosis en el ganado, desde hace más de 30 años.

#### RESISTENCIA A LOS FASCIOLICIDAS

Como es sabido, la Resistencia a los Fasciolicidas y Antiparasitarios en general, es un fenómeno cada vez más frecuente en las explotaciones ganaderas.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

A nivel mundial se reporta la existencia de cepas resistentes al Triclabendazol provenientes de Australia, Irlanda e Inglaterra, y a las Salicilanilidas en Irlanda (Fairweather, 2009, Comunicación personal).

En México todavía no tenemos conocimiento de la existencia de este fenómeno, pero dado al uso indiscriminado de un mismo fármaco o a la sub-dosificación entre otras causas, no sería raro que eventualmente se detecte problemas de resistencia a estos antihelmínticos.

Importante de mencionar, es desde el lanzamiento de triclabendazol, (Eckert et al, 1983) no ha habido ningún nuevo fasciolicida, por lo que es necesario trabajar en el desarrollo de nuevas moléculas que tengan alta eficiencia fasciolicida.

Durante muchos años, nuestro grupo de Investigación en colaboración con Investigadores la Facultad de Química de la UNAM hemos trabajado en el desarrollo de nuevas moléculas en donde se ha incidido en el diseño, la síntesis química, la toxicidad y evaluación biológica de varios principios activos.

De esta búsqueda y remontándonos a la historia surgió el compuesto Alfa o [5-chloro-2-(methylthio)-6-(1-naphthoxy)-1*H*-benzimidazole] (Hernández et al, 2002), el cual ha mostrado alta eficacia anti-fasciola en ovinos y bovinos (Ibarra Velarde et al., 2000; 2004; 2005; 2011; 2018; Vera Montenegro et al, 2001; 2003; 2004; 2006; 2011; Vértiz 2000; Ramírez Mayet, 2008; Munguía, 2009; Rivera Fernandez et al., 2002; 2004; 2005; McConville et al., 2006, 2007; 2012.

Sin embargo, dada su baja solubilidad este compuesto era solamente dosificado por vía oral ya que como todos los benzimidazoles en ese entonces eran prácticamente insolubles.

Aún cuando el compuesto Alfa generaba buenos resultados como fasciolicida, las investigaciones fueron detenidas ya que su limitante era el estar formulado solo para administración oral sin ofrecer mayores ventajas que sus competidores comerciales, además de que la obtención de su patente era difícil de obtener porque la mayoría de estudios con el compuesto ya habían sido publicados.

Entonces la gran interrogante era como hacer para obtener un fasciolicida inyectable?.

A través de múltiples esfuerzos el compuesto Alfa para administración oral, ha sido solubilizado como un profármaco al que denominamos como Alfa-plus y genera una alta eficacia fasciolicida. Importa mencionar que al aplicarlo a ovinos fasciolosos alcanza una eficacia del 99% utilizando solamente la mitad de la dosis (6 mg/kg/IM) en comparación a su antecesor.

Más recientemente, su solubilidad ha sido mejorada para aplicación intramuscular en ovinos y bovinos (Flores-Ramos et al, 2014), y se ha logrado eficacias entre 95 y 100% contra fasciolas adultas en ovinos infectados en forma experimental (Ibarra et al, 2018).

Al momento nuestro grupo trabaja además con varios alumnos de maestría y doctorado para concretar algunos estudios de campo, con la idea de obtener el Registro ante la SAGAR.

Por otro lado, conociendo el potencial fasciolicida del triclabendazol y considerando que se trata también de un derivado benzimidazólico, nuestro grupo también ha solubilizado este compuesto al



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

cual denominamos como Fosfatriclaben (Flores et al, 2016) y al administrarlo a ovinos fasciolosos a razón de 6 mg/kg/IM genera eficacia de hasta el 100 % lo cual es remarcable en virtud de que su antecesor oral es igualmente muy eficaz pero a dosis de 12 mg/kg/Per os (Arias, 2018). Esto va en concordancia con las políticas de los Ecologistas y Ambientalistas que sugieren contaminar lo menos posible el medio ambiente. De manera simultanea se está conduciendo otros estudios para contar con mayores pruebas que avalen las bondades y/o defectos de estos fasciolicidas inyectables.

### COMO Y CUANDO ADMINISTRAR LOS FASCIOLICIDAS

Es importante señalar que no solo importa contar con una molécula efectiva sino saber como y cuando dosificarla.

Como *F. hepatica* en nuestro país tiene una distribución muy variable, es importante conocer la epidemiología de la zona a tratar antes de querer establecer un calendario de desparasitación.

Sabemos que la desparasitación tradicional se hace antes y después de lluvias, pero si conocemos los picos de mayor prevalencia en el año, se puede implementar mas tratamientos que van a eficientizar la eficacia del fasciolicida utilizado.

Por lo anterior mencionado es importante y deseable conocer la prevalencia estacional ya que no se puede traspolar calendarios de desparasitación para todas las zonas fasciolosas de México.

Hoy en día, aún cuando la obtención de estos fasciolicidas en versión inyectable parece ser un pequeño paso para controlar la fasciolosis del ganado, se considera que su implementación futura en la práctica veterinaria producirá un avance remarcable pues facilitará el manejo del ganado, se protegerá tanto al animal como al operador y mantendrá alta eficacia utilizando concentraciones de fármaco menores a sus antecesores.

Finalmente, importa señalar que recientemente se obtuvo la Patente de estos profármacos inyectables por parte del IMPI y al someter la solicitud de Patente a Estados Unidos esta fue autorizada en solamente un año de trámites. De igual manera ambos compuestos están protegidos en Brasil, Colombia y Perú por la Coordinación de Innovación y Desarrollo de la UNAM y se espera que en un futuro cercano se puedan ofrecer estos desarrollos tecnológicos a la Industria Privada.

### Reflexiones y conclusiones

- ❖ Se sintetizaron dos nuevos profármacos (Alfa-plus y Fosfatriclaben), como sales mostrando un incremento en la solubilidad acuosa de 79,500 y 88,000 veces comparado con sus compuestos precursores. Esto aumenta considerablemente la biodisponibilidad permitiendo inyectarlos por vía intramuscular generando resultados de eficacia similares a sus antecesores pero utilizando la mitad de la dosis clínica recomendada.
- ❖ Los profármacos son estables a pH neutro, ideal para la formulación parenteral, además son enzimáticamente hidrolizados por la enzima fosfatasa alcalina para liberar al compuesto alfa o triclabendazol.
- ❖ Evaluaciones *in vitro* demostraron que tiene alto poder fasciolicida.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- ❖ Los resultados en ovinos y bovinos indican que ambos profármacos en administración intramuscular ofrecen una considerable reducción de fasciolas en comparación con los compuestos precursores.
- ❖ Existe un serio escepticismo en invertir dinero en el descubrimiento no solo de fasciolicidas sino de antiparasitarios en general y esto puede conducir a que en un futuro los parásitos vayan desarrollando mayor resistencia a los fármacos existentes por lo que es necesario investigar nuevas alternativas tendientes a lograr un eficiente control de las trematodosis en los rumiantes. Debemos siempre recordar que el ganadero usará antihelmínticos en la medida de que estos productos estén al alcance de su bolsillo.
- ❖ La mejor estrategia para controlar *F. hepatica* es utilizar el llamado «Control Integral» en donde se debe tratar por un lado al ganado parasitado y utilizar a la vez diferentes medidas de manejo a fin de reducir lo más posible presencia e incidencia de la parasitosis.
- ❖ Recordar que es sumamente importante conocer la Epidemiología de la Zona o la Prevalencia estacional para optimizar el uso y eficacia de los fasciolicidas. No se recomienda aplicar molusquicidas por las razones anteriormente mencionadas.
- ❖ Fasciola está siendo identificada como un parásito importante del hombre en el ámbito internacional. Sin embargo, su presencia en humanos de México resulta ser muy limitada y nada comparable con las pérdidas económicas que ocasionan en el ganado.

### Referencias bibliográficas

1. ARIAS GR. Comparación de la eficacia de un profármaco inyectable experimental con tres fasciolicidas comerciales en ovinos infectados en forma experimental. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM. Tesis de Maestría en CPSA, México, 2018:59.
2. DALTON, J.P. Fasciolosis. CABI Publishing. 1999.
3. ECKERT J, SCHNEITER G, WOLF K. Fasinex (Triclabendazole)- einneues Fazciolizide. Berl Münch Tierärztl Wschr. 1983. 91:249-356.
4. ECKERT J, SCHNEITER G, WOLF K. Fasinex (triclabendazole) a new fasciolicide. Berl. Munch. Tierarztl. Wschr 1984; 91: 349-356.
5. FAIRWEATHER I. AND BORAY J.C. Veterinary Journal. 1999; 1358: 81-112.
6. FLORES-RAMOS M, IBARRA-VELARDE FROYLÁN, DEL RIVERO LAURO, HERNÁNDEZ-CAMPOS ALICIA, VERA-MONTENEGRO YOLANDA, CANTÓ-ALARCÓN GERMINAL J. A highly water soluble benzimidazole derivative useful for the treatment of fasciolosis. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2014; 24: 5814-5817. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.10.017>.
7. FLORES R.M, IBARRA, V.F., JUNG C.H., HERNÁNDEZ C.A, VERA M.Y., CASTILLO, B.R. Novel triclabendazole prodrug: A highly water-soluble alternative for the treatment of fasciolosis. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2016; 27: (3) 616-619. ISSN: 0960-894X <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.004>.
8. GIL, L.C., DÍAZ, A., RUEDA, C., MARTÍNEZ, C., CASTILLO, D., APT, W. Fascioliasis hepática humana: resistencia al tratamiento con triclabendazol. RevMédChil, 2014. 142(10): 1330-1333.
9. HERNÁNDEZ CA, IBARRA VF, VERA MY, RIVERA FN, CASTILLO BR. Synthesis and Fasciolicidal Activity of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-1H-benzimidazole. Chem. Pharm. Bull. 2002; 50(5): 649-652.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

10. IBARRA VELARDE F, MONTENEGRO CRISTINO N, FLORES CRESPO J, HERNÁNDEZ CAMPOS A, CASTILLO BOCANEGRA R. Evaluación de 4 vehículos para formular un fasciolicida experimental. *Veterinaria Mexico*. 2000;31 (1) 47 - 51.
11. IBARRA VELARDE F, YOLANDA VERA, HÉCTOR QUIROZ, JORGE CANTÓ, RAFAEL CASTILLO, ALICIA HERNÁNDEZ, PEDRO OCHOA. Determination of the effective dose of an experimental fasciolicide in naturally and experimentally infected cattle. *Veterinary Parasitology* 2004: 120; 65-74.
12. IBARRA VELARDE F, YOLANDA VERA, RAQUEL LÓPEZ, GERMINAL CANTÓ, ALICIA HERNÁNDEZ, RAFAEL CASTILLO. Compound Alpha: Comparison of two fasciolicide formulation in cattle. *Intern. J. of Appl. Res. Vet. Med.* 2005.
13. IBARRA VF, FIGUEROA CJA, QUIROZ RH. *Parasitología Veterinaria. Volumen II. Helmintos.* Editorial Castdel S.A, México D.F., 2011.
14. IBARRA VF, VERA MY, MUNGUÍA XJ. Epidemiología de la fasciolosis animal y humana. En QUIROZ RH, *et al* (editores). *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos.* México: FMVZ-UNAM, 2011: 137-172.
15. IBARRA-VELARDE F, , VERA-MONTENEGRO Y, FLORES-RAMOS M, CANTÓ-ALARCON G.J, HERNÁNDEZ-CAMPOS A , ALCALA-CANTO Y, CASTILLO R. Assessment of the effective dose of an experimental intramuscular formulation against immature and adult *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Parasitology*, 2018; 260: 38-44.
16. MCCONVILLE M, BRENNAN GP, MCCOY M, CASTILLO R, HERNÁNDEZ-CAMPOS A, IBARRA F, FAIRWEATHER I. Adult triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*: surface and subsurface tegumental responses to in vitro treatment with the sulphoxide metabolite of the experimental fasciolicide compound alpha. *Parasitology* 2006; 133: 1-14.
17. MCCONVILLE M, BRENNAN GP, MCCOY M, CASTILLO R, HERNÁNDEZ-CAMPOS A, IBARRA F, FAIRWEATHER I. Immature triclabendazole-resistant *Fasciola hepatica*: tegumental responses to in vitro treatment with the sulphoxide metabolite of the experimental fasciolicide compound alpha. *Parasitology Research* 2007; 100: 365-377.
18. MCCONVILLE, R.E.B. HANNA, G.P. BRENNAN, H.W.J. EDGAR, S. MCCONNELL, M. MCCOY, R. CASTILLO, A. HERNÁNDEZ-CAMPOS, I. FAIRWEATHER. Impact of compound alpha treatment in vivo on egg production by the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology* 2012; 187: 183– 195.
19. MARTÍNEZ SR, DOMENECH CI, MILLÁN MJC, PINO SA. Fascioliasis, revisión clínico-epidemiológica y diagnóstico. *Rev Cubana HigEpidemiol, La Habana, Cuba*, 2012; 50(1).
20. MUNGUÍA XJ. Evaluación *In vivo* e *in vitro* de fasciolicida experimental solubilizado con ciclodextrinas (tesis de doctorado en ciencias). D.F. (México) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 2009.
21. RAMÍREZ, N., MAYET, L., DEL RIVERO L., IBARRA-VELARDE, F., CASTILLO, R. HERNÁNDEZ-CAMPOS, A. JUNG-COOK H. Pharmacokinetic behavior in sheep and cattle of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthylthio)-1H-benzimidazole, a new Fasciolicide Agent. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2008; 32; 154-159.
22. RIVERA FN, IBARRA VF, OLAZARÁN JS, VERA MY, CASTILLO BR, HERNÁNDEZ CA. Eficacia del 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthylthio) benzimidazole contra diversas edades de *Fasciola hepatica* en ovinos. *Vet. Méx.* 2002; 33(1): 55 – 61.
23. RIVERA NORMA, IBARRA FROYLÁN, ZEPEDA ARMANDO, FORTOUL TERESA, HERNÁNDEZ ALICIA, CASTILLO RAFAEL, CANTÓ GERMINAL. Tegumental surface changes



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- in adult *Fasciola hepatica* following treatment in vitro and in vivo with an experimental fasciolicide. *Parasitology Research* 2004; 93: 283-286.
24. RIVERA NORMA, IBARRA FROYLÁN, ZEPEDA ARMANDO, FORTOUL TERESA, CANTÓ GERMINAL, HERNÁNDEZ ALICIA, CASTILLO RAFAEL. The effect of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthylloxy)-1H-benzimidazole called compound alpha on the tegument of immature *Fasciola hepatica* in its natural host. *Parasitology Research* 2005; 95:379-382.
  25. RODRIGUEZ VRI, GRISI L, PÉREZ DLAA, SILVA VH, TORRES AJFJ, FRAGOSO SH, ROMERO SD, ROSARIO CR, SALDIERNA F, CARRASCOD. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Review. Rev Mex Cienc Pecu*, 8(1); 2017: 61-74.
  26. SAVIOLI, L.; CHITSULO, L.; MONTRESOR, A. New opportunities for the control of fascioliasis. *Bull WorldHealthOrgan*.1999, 77, 300.
  27. TAYLOR MA, COOP RL, WALL RL. *Veterinary Parasitology*. 4th Ed. Oxford Blackwell. Uk 2016.
  28. VERA MY, IBARRA VF, QUIROZ, RH, RIOS, UA, CASTILLO, BR, HERNÁNDEZ, CA. Eficacia del 6-cloro-2-metilthio-5-(1-naftiloxi) bencimidazol contra *Fasciola hepatica* de cuatro y diez semanas de edad en bovinos de México. *Veterinaria México* 2001; 32(1):77-80.
  29. VERA MONTENEGRO Y, IBARRA VELARDE F, QUIROZ ROMERO H, HERNÁNDEZ CAMPOS A, CASTILLO R. Field trial on the efficacy of an experimental fasciolicide compared with some commercial compounds in naturally infected cattle. *Parasitology Research* 2003; 91: 1- 4.
  30. VERA MONTENEGRO Y, F. IBARRA VELARDE, E. LIÉBANO HERNÁNDEZ, H. QUIROZ ROMERO, R. CASTILLO BOCANEGRA, A. HERNÁNDEZ CAMPOS, P. OCHOA GALVÁN. Efficacy of an experimental fasciolicide against immature and mature *Fasciola hepatica* in artificially infected calves. *Parasitology Research* 2004; 92: 211-214.
  31. VERA Y, IBARRA F, CANTÓ GJ, SORIA O, CASTILLO R, HERNÁNDEZ A. Determination of the Maximum Tolerated Dose and the Safety Index of an Experimental Fasciolicide in Cattle. *J. Vet. Med. B* 2006; 53: 145-149.
  32. VERA MY. Fascioliasis en: Editores IBARRA VF, FIGUEROA CJA, QUIROZ RH. *Parasitología Veterinaria*. Volumen II. Helmintos Editorial Castdel S.A, México D,F, 2011: pag. 57.
  33. VÉRTIZ SG. Evaluación farmacocinética de  $\alpha$ BIO10 en ganado vacuno. Tesis de Maestra en Farmacia (Biofarmacia). Facultad de Química. División de estudios de Posgrado. UNAM. 2000.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## INTEGRACIÓN DE ESTRATEGIAS DE CONTROL DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN OVINOS

Dr. Pedro Mendoza de Gives

Área de Helmintología. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del INIFAP. Boulevard Paseo Cuauhnahuac No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Mor. CP. 62550. pedromdgives@yahoo.com.mx

### Resumen

La presente charla muestra un panorama general sobre la problemática que implican las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales a rebaños ovinos en México en la salud animal y en la productividad. Asimismo, se muestran las principales desventajas del uso tradicional de la quimioterapia antihelmíntica en la salud pública; así como el daño al ambiente y la generación de cepas de nematodos resistentes a los antihelmínticos disponibles comercialmente. Por último la plática se enfoca al análisis de algunas estrategias sustentables de control de los parásitos con énfasis en la integración de algunos métodos de control, con lo que se logra potenciar el efecto en la disminución de las cargas parasitarias en el rebaño beneficiando a la salud animal y en la productividad; sin los efectos indeseables del uso de las drogas químico-sintéticas.

### Introducción

La industria ganadera enfrenta una serie de problemas ocasionados por diversas enfermedades infecciosas y parasitarias que provocan una importante disminución en la productividad (Jaramillo et al., 2007). Los animales enfrentan una amplia variedad de nematodos parásitos del tracto digestivo que se manifiestan clínicamente como falta de apetito, debilidad, pérdida de peso, susceptibilidad a contraer otras infecciones del tracto digestivo o del sistema respiratorio, pudiendo llegar a ser fatal, sobre todo en animales jóvenes que aun no han desarrollado adecuadamente su sistema inmunológico (Roeber et al., 2013). Uno de los principales nematodos considerados de alta patogenicidad debido a su a sus hábitos de hematofagia es *Haemonchus contortus* quien puede ocasionar la muerte súbita en animales jóvenes y ha sido clasificado como el principal causante de pérdidas de gran importancia para la ovinocultura nacional y en muchas partes del mundo (Qamar et al. 2010).

La manera en que durante décadas los productores han enfrentado estas parasitosis, ha sido a través del uso continuo y permanente de drogas químicas sintéticas que son administradas en los animales con la finalidad de reducir las cargas parasitarias en los animales, junto con los estragos en la salud de los rebaños (Subhalaxmi et al., 2015; BRP, 2015). No obstante, el uso constante de estos compuestos en los animales trae consigo importantes desventajas como son el desarrollo de resistencia antihelmíntica (Torres-Acosta et al., 2012). Este fenómeno es una estrategia genética que desarrollan los parásitos al ser presionados con las desparasitaciones frecuentes, ya que en su genoma se ejerce una presión constante generación tras generación; a este respecto es interesante como los parásitos al igual que cualquier organismo vivo ante una presión de selección tienden a mutar uno o más genes para sobrevivir ante la adversidad, en este caso ante la acción de los





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

antihelmínticos. Esta modificación en uno o más genes en el ADN de los parásitos les confieren la capacidad de evadir el efecto del fármaco, volviéndose resistentes a estos medicamentos. Esta característica se presenta cada vez en más y más parásitos ya que cuando los productores desparasitan a sus animales con estas drogas, lo que se consigue es matar a los parásitos “susceptibles” que aun no han desarrollado las mutaciones de resistencia e indirectamente se permite que los parásitos que ya poseen los cambios genéticos que le confieren la resistencia ante el efecto de los desparasitantes, sean los únicos que sobrevivan a los tratamientos. En otras palabras, al seguir utilizando los compuestos antiparasitarios se consigue una selección de parásitos con la característica de resistencia a la droga. Desparasitar al ganado utilizando las drogas que ya han desencadenado resistencia en los parásitos no solo es un gasto infructuoso, sino un riesgo para los animales, ya que las consecuencias nocivas en la salud de los animales siguen su curso, junto con las consecuencias en la disminución del potencial zootécnico de los animales. Por otra parte, existen también otras desventajas en el uso de las drogas químicas antiparasitarias como por ejemplo, algunos desparasitantes como las lactonas macrocíclicas, al ser administradas en los animales no sufren cambios en su molécula o sea que no se biotransforman en el organismo y son eliminadas en su forma activa, ya sea en las heces o en la orina (Wagil et al., 2015), para finalmente llegar al ambiente donde ocasionan daños a organismos benéficos como es el caso del escarabajo estercolero (*Sacarabainae*), que juega un papel muy importante en la naturaleza, reciclando el nitrógeno en el suelo, promoviendo la fertilidad del mismo (Basto-Estrella et al., 2012). Adicionalmente, administrar drogas químicas antihelmínticas en el rebaño, puede ocasionar problemas de salud pública; ya que residuos tóxicos de la droga pueden llegar a permanecer en los productos o subproductos de origen animal como carne, leche, queso, lácteos diversos, etc. y de esta manera ser consumidos por la gente (Danaher and Jordan 2013; O’Keefe and Muñiz Ortiz, 2015).

Los problemas que ocasionan los parásitos en la salud animal y en la productividad del rebaño tienen que ser enfrentados de una manera eficiente y sustentable; por otro lado, la creciente demanda actual de productos de origen animal con una alta calidad e inocuidad requiere de buscar estrategias de control de las enfermedades parasitarias del rebaño que permitan reducir satisfactoriamente las cargas parasitarias en los animales, sin ser un riesgo de salud pública, ni afectar a organismos benéficos en el suelo.

### Antecedentes

#### Búsqueda de estrategias de control de parásitos gastrointestinales

En la búsqueda de estrategias de control de parásitos del rebaño diferentes al uso de las drogas químicas, durante las últimas décadas los investigadores se han dado a la tarea de explorar distintas alternativas de control; como son la estrategia nutricional, manejo del pastoreo, uso de partículas de cobre, vacunas, uso de plantas y metabolitos producidos por plantas; método de desparasitación selectiva (FAMACHA), así como el uso de antagonistas naturales de los nematodos, particularmente de hongos nematófagos (Mendoza de Gives, 2018; Simpraga et al., 2015). A continuación, se muestran de manera breve algunas de las principales alternativas de control de nematodos parásitos que afectan a rebaños ovinos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Estrategia nutricional

Una manera de favorecer el control de los parásitos en los animales es utilizando un manejo adecuado de la nutrición animal con base en una dieta rica en proteína y energía digestible con lo que se pretende estimular al sistema inmunológico de los animales. Esta estrategia de control se sustenta en la respuesta inmunológica en los animales en contra de los parásitos y dicha respuesta está dada por la producción de células de defensa dirigidas a proteger el organismo de los parásitos. Para poder generar una respuesta inmunológica adecuada contra los parásitos se requiere de una fuente rica en proteínas, misma que debe ofrecerse en la dieta (Cotter et al., 2009). Los animales que reciben una fuente rica en proteína en la dieta son por lo regular buenos respondedores inmunológicos contra los parásitos. Los animales que consumen una cantidad regular de proteína de buena calidad en la dieta pueden convertirse en refractarios a los parásitos y su respuesta inmune celular impide el establecimiento de una población importante de parásitos en su tracto digestivo. A este proceso se le ha dado el nombre de resistencia a los parásitos (Sankaralingam et al., 2018). Otros animales que consumen una dieta rica en proteína pueden permitir que los parásitos se establezcan en su tracto digestivo; sin embargo, el efecto patógeno de los parásitos se ve minimizado, permitiendo que los animales a pesar de estar parasitados no se vean afectados y continúen con su proceso productivo. A estos animales se les ha dado el nombre de “resilientes” (Onzima et al., 2017).

### Manejo de pastoreo

El forraje es el recurso nutricional más importante en un sistema de producción ovina; sin embargo, en el pasto, específicamente en las gotas de rocío en las hojas del pasto se alojan cientos y miles de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del rebaño provenientes de las heces de los animales conteniendo huevos de estos parásitos. Estas larvas son ingeridas junto con el forraje por los animales y de esta manera los rebaños siempre estarán expuestos de manera continua a consumir larvas de los parásitos y de esta manera se reinfecan rápidamente. Este sistema de reinfeción puede darnos la pauta para manipular el pastoreo de los animales y evitar que los animales ingieran larvas y se reinfecten. Es importante considerar que una vez que las heces conteniendo huevos de los parásitos son eliminadas al medio ambiente, los huevos de estos parásitos tardan en eclosionar del huevo en un periodo aproximado de 3 a 5 días dependiendo de las condiciones de temperatura y humedad ambiental. El método de control de los parásitos mediante el pastoreo controlado, consiste en dividir el área de pastoreo en sub-áreas tomando en cuenta la carga animal para la sub-área de pastoreo para alojar al rebaño en una primera sub-área de pastoreo donde los animales permanecerán solamente 2 días en pastoreo. Al día siguiente los animales son alojados en una 2ª sub-área de pastoreo para que las larvas que eclosionaron de los huevos en las heces depositadas en la primera sub-área ya no tengan un hospedero a quien infectar. Este procedimiento se repite con las sub-áreas subsecuentes las veces que sea necesario de manera tal que regresen a la primer sub-área de pastoreo hasta después de 4 a 6 semanas. Durante este periodo las larvas que se encontraban infectando esa área ya murieron o al menos su población es muy baja. Este sistema es efectivo, aunque se requiere contar con la superficie de pastoreo suficiente para poder descansar el pasto y que la población de larvas disminuya sustancialmente (Walkden-Brown et al., 2013).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Vacunas

Durante varias décadas se intentó obtener un inmunógeno capaz de generar una respuesta inmunoprotectora satisfactoria en contra de los nematodos gastrointestinales que afectan a rebaños ovinos. Los primeros estudios que lograron generar una vacuna con una excelente respuesta inmunoprotectora fueron llevados a cabo por el Dr. Edward Munn en el Instituto Babraham en Cambridge, en los años 90's. En estos estudios se logró obtener un antígeno (proteína H-11) a partir del intestino de la hembra adulta de *H. contortus* con una elevada actividad inmunoprotectora casi del 100% (Munn, 1997). Sin embargo, la producción masiva de este valioso material inmunoprotector no se logró obtener en vectores y por esta razón este intento por utilizar una vacuna fue perdiendo interés. Sin embargo, muchos años después en el Instituto Moredun en Escocia se intensificaron los estudios con estos antígenos a través del Dr. David Knox quien logró obtener una vacuna, aunque con resultados variables y no fue sino hasta el año 2010 en que en España se logró finalmente una vacuna utilizando la tecnología recombinante con un antígeno somático (rHc23) logrando una inmunoprotección cercana al 70% (González-Sánchez et al., 2018). Esta vacuna aun no se encuentra disponible comercialmente, pero se espera que pronto llegue a los productores de todo el mundo.

### Uso de plantas y metabolitos de plantas

La medicina tradicional o herbolaria aplicada a la veterinaria se basa en el tratamiento del ganado utilizando plantas medicinales o compuestos derivados de estas plantas, con lo que se espera obtener un control natural. Existe actualmente una gran lista de plantas y sus productos que han demostrado poseer una importante actividad antihelmíntica. Algunos grupos de plantas como las leguminosas destacan por poseer compuestos con actividad antiparasitaria. Algunos ejemplos de plantas con actividad nematicida incluyen a la *Lysiloma acapulcensis*, *Acacia cochliacantha*, *Pithecellobium dulce*, *Leucaena leucocephala*, *Cratylia argentea*, *Gliricidia septium*, *Cesalpinia coriaria*, *Ruta chalepensis*, entre otras. Dentro de los compuestos que han sido elucidados en estas y otras plantas con propiedades nematicidas se han encontrado compuestos polifenólicos, taninos condensados, alcaloides, saponinas, entre otros (von Son de Fernex et al., 2012; Olmedo-Juárez et al., 2014, 2015; Jasso-Díaz et al., 2017; De Jesús Martínez et al., 2019). Estas plantas pueden ser establecidas en los potreros o bien como cercos ganaderos. Muchas de estas plantas además de poseer los metabolitos bioactivos contra nematodos, tienen un plus nutricional ya que varias poseen un elevado contenido proteico además de ser palatables para el ganado y resistentes a condiciones adversas como inundaciones o sequías.

### Control biológico

El suelo es un hábitat donde coexiste una gran diversidad de microorganismos entre los cuales se establecen de manera continua asociaciones biológicas que afectan a parásitos de interés pecuario. La microbiota del suelo incluye a una extensa gama de microorganismos ie., bacterias, ácaros, protozoa, hongos, nematodos, entre muchos otros que ejercen un efecto antagónico contra poblaciones de nematodos que afectan severamente la salud del ganado (Dreistadt, 2015; da Silva et al., 2015). Los hongos nematófagos son microorganismos saprobios del suelo, que en presencia de nematodos llevan a cabo una comunicación intercelular y producen trampas especializadas para capturar, destruir y alimentarse de nematodos que habitan el suelo y que son considerados como



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

los principales enemigos naturales de los nematodos conocidos hasta ahora (Youssar et al., 2019; Ojeda-Robertos et al., 2019).

Actualmente se conocen alrededor de 200 géneros y especies de hongos nematófagos que poseen una importante actividad contra nematodos parásitos de plantas y animales; sin embargo, la especie *Duddingtonia flagrans*, es hasta ahora el hongo nematófago más promisorio como posible agente potencial de control de parásitos de importancia pecuaria (Ortiz-Pérez et al 2017; Mendoza de Gives et al., 2018). La especie *D. flagrans* produce de manera espontánea una gran cantidad de clamidosporas que son esporas de resistencia que producen algunos hongos nematófagos cuando envejecen o cuando acaban sus nutrientes en el medio. Estas clamidosporas puede ser administradas en los animales por vía oral, ya sea mezcladas con el alimento del ganado o a través del uso de péllets o galletas multinutricionales que contienen clamidosporas de este hongo (Casillas Aguilar et al., 2008; Fitz Aranda et al., 2015). Una vez que las clamidosporas son consumidas por el animal, estas pasan a través del tracto digestivo de los animales y son eliminadas junto con las heces en donde germinan y al entrar en estrecho contacto larvas de los nematodos gastrointestinales recién eclosionadas estas reciben un estímulo proveniente de la cutícula de los nematodos para que el hongo transforme sus micelios en trampas especializadas con las que capturan, matan y se alimentan de dichas larvas, rompiendo de esta manera el ciclo biológico de los parásitos. De esta manera, evitan la dispersión de la contaminación de larvas en los potreros y evitan las reinfecciones del ganado. Los hongos nematófagos incluyendo a *D. flagrans* son totalmente inocuos para plantas, animales y el hombre (Assis et al., 2012) y han sido evaluados en diversos estudios y han demostrado ser una excelente herramienta de control de nematodos parásitos de rumiantes (Aguilar-Marcelino et al., 2018; Mendoza de Gives et a., 2018).

### Integración de métodos de control de nematodos gastrointestinales de ovinos

Una propuesta que permite utilizar de manera simultánea o alternada algunas de las distintas estrategias de control de parásitos del ganado consisten en aprovechar dos o más herramientas que han dado buenos resultados disminuyendo las cargas parasitarias en los animales. Es importante inicialmente saber con que herramientas contamos para implementar un programa estratégico basado en la presentación de las parasitosis en el rebaño donde se desee llevar a cabo dicho control integral de las parasitosis. Algunos factores importantes asociados a la presentación de las parasitosis deberán ser tomados en cuenta como son el manejo que se le da al rebaño, tipo de sistema, si pastorea el rebaño que tipo de pasto consumen y en que época del año, si existe algún programa de desparasitación en la unidad de producción, con que drogas se ha tratado a los animales y con que frecuencia se tratan los animales. Asimismo, es importante saber la calidad y cantidad de forraje que consumen los animales. También es crucial llevar a cabo un diagnóstico coproparasitoscópico para contar con información sobre la cuenta de huevos por g de heces en los animales. También es de gran utilidad llevar a cabo la identificación de géneros de parásitos que están afectando a nuestros animales mediante la elaboración de cultivos fecales, seguido de la obtención e identificación de los parásitos utilizando claves especializadas para tal efecto y si se cuenta con la infraestructura y la capacitación adecuada para llevar a cabo pruebas de taxonomía molecular para corroborar los géneros de nematodos presentes en el rebaño. Es también muy importante contar con información sobre la dinámica de eliminación de huevos de los parásitos a lo largo de las distintas etapas del año. Una vez que se cuenta con esta información, se recomienda



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

hacer un estudio basado en el periodo de un año de producción en donde se deben establecer criterios para ofrecer una dieta rica en proteína para lo cual es necesario también saber la calidad y cantidad de nutrientes que han recibido los animales del consumo del forraje para de esta manera llevar a cabo los ajustes necesarios en la dieta. La utilización de plantas que han demostrado poseer actividad antihelmíntica y que adicionalmente ofrecen un importante aporte de proteína a los animales que los consumen es una excelente estrategia complementaria. El uso de plantas del grupo de las leguminosas es un ejemplo que puede ser considerado como una segunda estrategia antiparasitaria. A este respecto es importante considerar las características agrometeorológicas de la zona donde se tiene la unidad de producción para poder hacer una selección ad hoc de las plantas que se pretenden establecer en los potreros. Algunas plantas que han demostrado una potente actividad antihelmíntica incluyen al grupo de las leguminosas forrajeras como *L. leucocephala*, *C. argentea* o *Gliricidia septium*, entre otras; así como las como *Caesalpinia coriaria* y *Prosopis laevigata*. Estas plantas pueden ser implantadas en los potreros ya que su palatabilidad, alto contenido en proteína y su capacidad adaptativa al ambiente son una excelente alternativa contra los parásitos.

Otra estrategia viable es el uso de hongos nematófagos de la especie *D. flagrans*. Las clamidosporas de este hongo se administran mezcladas junto con el alimento para el ganado a razón de 500 mil clamidosporas por kg de peso corporal tres veces por semana principalmente en época de lluvias que coincide con una elevada población de larvas en el pasto. Esta estrategia permite reducir hasta en un 70-90% la población de larvas en las heces y como consecuencia en el pasto. Los animales estarán menos expuestos al consumo de larvas infectantes al consumir el pasto, reduciendo las reinfecciones junto con los efectos nocivos de los parásitos en la salud de los animales y permitiendo que estos expresen su máximo potencial productivo. La combinación de estas estrategias permitirá una disminución sustancial de las parasitosis, disminuyendo al máximo el uso de drogas químicas que tanto afectan al medio ambiente y amenazan la salud pública como residuos tóxicos en los productos para consumo humano.

### Referencias bibliográficas

- Aguilar-Marcelino, L., Mendoza-de Gives, P., Torres-Hernández, G., López-Arellano, Ma. E., Becerril-Pérez, C.M., Orihuela-Trujillo, A., Torres-Acosta, F., Olmedo-Juárez, A. (2018) Consumption of nutritional pellets with *Duddingtonia flagrans* fungal chlamydo spores reduces infective nematode larvae of *Haemonchus contortus* in faeces of Saint Croix lambs. *Journal of Helminthology* 91(6):1-7
- Assis, R.C.L., Luns, F.D., Araújo, J.V., Braga, F.R. (2012) Biological control of trichostrongyles in beef cattle by nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southern Brazil. *Experimental Parasitology* 132: 373-377.
- Basto-Estrella, G., Rodríguez-Vivas, R.I., Delfín-González, H- y Reyes-Novelo, E. (2012) Escarabajos estercoleros (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) de ranchos ganaderos de Yucatán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 83(2) Versión on line ISSN 2007-8706 versión impresa ISSN 1870-3453.
- BRP (2015) The Better Returns Programme Cattle and sheep parasite control guide.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Casillas Aguilar, J.A., Mendoza de Gives, P., López Arellano, M.E., Liébano Hernández, E. (2008) Ann, N.Y., Acad. Sci. 1149:161-163.
- Cotter, S.C., Catherine, E., Reavey, E., Tummala, Y., Randall, J., Holdbrook, R., Ponton, F., Simpson, S.J., Smith, J.A., Willson, K. (2019) Diet modulates the relationship between immune gene expression and functional immune responses. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 109: 128-141.
- da Silva, M.E., Ribeiro Braga, F., Mendoza de Gives, P., Mercado Urióstegui, M.A., Reyes, M., de Freitas Soares, F.E., Milena de Carvalho, L., Bosi Rodrigues, F., Victor de Araújo, J. (2015) Efficacy of *Clonostachys rosea* and *Duddingtonia flagrans* in Reducing the *Haemonchus contortus* Infective Larvae,” *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 474879, 5 pages, 2015. doi:10.1155/2015/474879
- Danaher, M. and Jordan, K. (2013) Identification of existing and emerging chemical residue contamination concerns in milk. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 52:173-183.
- De Jesús-Martínez, X., Olmedo-Juárez, A., Rojas-Hernández, S., Zamilpa, A., Mendoza de Gives, P., López-Arellano, Ma. E., Villa-Mancera, A., Camacho-Díaz, L.M., Cipriano-Salazar, M., Olivarez-Pérez, J. (2019) Evaluation of the hydroalcoholic extract elaborated with *Caesalpinia coriaria* Jacq Willd tree fruits in the control of *Haemonchus contortus* Rudolphi. *Agroforestry systems*. Doi.org/10.1007/s10457-019-00398-0.
- Dreistadt, S.H. (2015) Biological control and natural enemies of invertebrates. Pest notes: Publication 74140. University of California. Agriculture and Natural resources. Statewide Integrated Pest Management Program.
- Fitz-Aranda, J.A., Mendoza-de-Gives, P., Torres-Acosta, J.F.J., Liébano-Hernández, E., López-Arellano, M.E., Sandoval-Castro, C.A., and Quiroz-Romero, H. (2015). *Duddingtonia flagrans* chlamydospores in nutritional pellets: effect of storage time and conditions on the trapping ability against *Haemonchus contortus* larvae. *Journal of Helminthology*, 89, pp 13-18. doi:10.1017/S0022149X13000539.
- González-Sánchez, M.E., Cuquerella, M., Alunda, J.M. (2018) Vaccination of lambs against *Haemonchus contortus* with the recombinant rHc23. *PLoS One*. 13(3):e0193118.
- Jaramillo, J., Rodríguez, V.P., Guzmán, M., Zapata, M. Renfigo, T. (2007). Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. Palabras Claves: tomate bajo condiciones protegidas, invernadero, manejo del cultivo, manejo fitosanitario, protección de cultivos, manejo seguro de plaguicidas, cosecha y manejo poscosecha, normatividad BPA, desarrollo rural, buenas prácticas agrícolas, seguridad alimentaria y nutricional, FAO, Gobernación de Antioquia, Colombia, MANA, CORPOICA, Centro de Investigación “La Selva”.
- Jasso-Díaz, G., Torres-Hernández, G., Zamilpa, A., Becrril-Pérez, C.M., Ramírez-Bribiesca, J., Hernández-Mendo, O., Sánchez-Arrollo, H., González-Cortazar, M., Mendoza-de Gives, P. (2017) In vitro assessment of *Argemone mexicana*, *Taraxacum officinale*, *Ruta chalepensis* and *Tagetes filifolia* against *Haemonchus contortus* nematode eggs and infective (L 3 ) larvae. *Microbial Pathogenesis* 109, DOI: 10.1016/j.micpath.2017.05.048
- Mendoza-de Gives P, López-Arellano ME, Aguilar-Marcelino L, Olazarán-Jenkins, S., Reyes-Guerrero D. Ramírez-Vargas, G., Vega-Murillo V.E. (2018) The nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* reduces the gastrointestinal parasitic nematode larvae population in



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- faeces of orally treated calves maintained under tropical conditions-Dose/response assessment. *Vet Parasitol.* 15(263):66-72. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.10.001.
- Munn, E. (1997) Rational design of nematode vaccines: Hidden antigens. *International Journal for Parasitology* 27(4):359-366.
- O'Keefe, M. and Muñoz Ortiz, J. (2015) Veterinary Drugs, Pesticides and environmental contaminants. 2015 Residue Sampling Plans. National Residue Program for Meat, Poultry, and Egg Products. United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service Office of Public Health Science. Washington, USA.
- Ojeda-Robertos, N.F., Aguilar-Marcelino, L., Olmedo-Juárez, A., Luna-Palomera, C., Peralta-Torres, J.A., López-Arellano, M.E., Mendoza-de-Gives, P. (2019) In vitro predatory activity of nematophagous fungi isolated from water buffalo feces and from soil in the Mexican southeastern. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* vol.28 no.2 Jaboticabal Apr./June 2019 Epub June 06, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612019011>
- Olmedo Juárez, A., Rojo Rubio, R., Arece García, J., Mohamed Salem, A.Z., Morales Almaraz, E., Albarrán Portillo, B., Lee Rangel, H.A., Vázquez Armijo, J.F. (2015) Extracto de *Lysiloma acapulcensis* en la digestibilidad y fermentación ruminal de una dieta para ovinos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* [online]. 2015, vol.2, n.5, pp.173-182. ISSN 2007-901X.
- Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Arece-García, J., Salen, A.Z.M, Kholif, A.E., Morales-Almaráz, E. (2014) *In vitro* activity of *Pithecellobium duke* and *Lysiloma acapulcensis* on exogenous development stages of sheep gastrointestinal strongyles. *Italian Journal of Animal Science.* 13(4).
- Onzima, R.B., Mukibi, R., Ampaire, A., Benda, K.K., Kanis, E. (2017) Between-breed variations in resistance/resilience to gastrointestinal nematodes among indigenous goat breeds in Uganda. *Trop Anim Health Prod.* 49(8):1763–1769.
- Ortiz-Pérez, D.O., Sánchez-Muñoz, B., Nahed-Toral, J., Zebadúa, M., Cruz-López, L., García, M., Mendoza-de Gives, P. (2017) Using *Duddingtonia flagrans* in calves under an organic milk farm production system in the Mexican tropics. *Experimental Parasitology* 175. DOI: 10.1016/j.exppara.2017.02.009
- Qamar, F., Maqbool, A., Ahmad, N. (2010) Economic losses due to Haemonchosis in sheep and goats. *Sci.Int. (Lahore)*, 23(4)321-324.
- Roeber, F., Jex, R.A., HGasser, B.R, (2013) Impact of gastrointestinal nematodes of sheep, and their role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance. *Parasites and Vectors* 6:153.
- Sankaralingam, G., Raman, M., harikrishnan, T.J., Pandiyan, V., Sahoo, S., Prakash, O. (2018) *Haemonchus contortus* load and anthelmintics resistance in Sheep and Goats in Chennai, Tamil Nadu, India. *International Journal of Chemical Studies.* 6(5):2712-2716.
- Simpraga, M., Ljubicic, I., Hiede, J.P., Vugrovecki, A.S., Tkalcic, S. (2015) Alternative approaches for the control of gastrointestinal nematodes in sheep farming: a review. *Bewrl. Munch. Tieraztl. Wochenschr.* 128(7-8) 257-279.
- Subhalaxmi, R., Rathod, A., Sarkar, S., Pramanik, A. (2015) Evaluation of some Bio-Pesticide against Root-Knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in Okra. Conference: International Conference on Innovative Insect Management Approaches for Sustainable Agro Eco System (IIMASAE), At TNAU, Madurai, Tamil Nadu



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- 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. *Veterinary Parasitology* 189:89-96.
- Von Son de Fernex, E., Alonso-Díaz, M.A., Valles-de la Mora, B., Capetillo-Leal, C.M. (2012) *In vitro* anthelmintic activity of five tropical legumes on the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Exp. Parasitol.* 131(4):413-418.
- Wagil, M., Bialk-Bielinska, A., Puckowski, A., Wychodnik, K., Maszkowska, J., Mulkiewicz, E., Kumirska, J., Stepnowski, P., Stolte, S. (2015) Toxicity of anthelmintic drugs (fenbendazole and flubendazole) to aquatic organisms. *Environmental Science Reserach International* 22(4)2566-2573.
- Walden-Brown, S.W., Colvin, A.F., Hall, E., Knox, M.R., Mackay, D.F., Scott, J.M. (2013) Grazing systems and worm control in sheep: a long-term case study involving three management systems with analysis of factors influencing faecal worm egg count. *Animal Production Science* 53(8) 765-779 <https://doi.org/10.1071/AN13037>
- Youssar, L., Wernet, V., Hensel, N., Yu, X., Heinz-Georg, H., Schreckenberger, B., Kriegler, M., Heltzer, B., Frankino, P., Dillin, A., Fisher, R. (2019) Intercellular communication is required for trap formation in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *PLoS Genet* 15(3):e1008029. doi: 10.1371/journal.pgen.1008029





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## INTEGRACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN EL MODELO DE PARICIONES ACELERADAS EN OVEJAS DE PELO

González GR

Unidad Regional Universitaria Sursureste. Universidad Autónoma Chapingo. Km 7.5 Carretera  
Teapa- R. Vicente Guerrero. robgardu@hotmail.com

### Introducción

La infección por nematodos gastrointestinales (NGI) representa una de las principales causas de pérdidas económicas en ovinos en pastoreo, especialmente en climas cálidos, donde proliferan durante la mayor parte del año. Las especies de NGI que parasitan a los pequeños rumiantes con mayor frecuencia son: *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis* (Cruz-Rojo et al., 2012; Macarthur et al., 2013), aunque abundan *Oesophagostomum* spp, *Strongyloides* spp, *Trichuris* spp y *Bunostomum* spp. (Zeryehun, 2012).

Para el control de NGI se han utilizado principalmente productos químicos, con los que se ha evitado los signos clínicos de parasitosis en ovejas y corderos en muchas regiones del mundo. Sin embargo, el uso frecuente de éstos ha originado que con el tiempo los parásitos se vuelvan resistentes a los antihelmínticos (Sayers et al., 2005) evitando así la acción de los desparasitantes.

Debido al incremento constante de resistencia antihelmíntica (RA), a últimas fechas se han explorado nuevas medidas de control bajo un enfoque integrado, donde los parásitos son atacados desde diferentes perspectivas, evitando el uso de medicamentos antihelmínticos (Charlier et al., 2014). Las alternativas han considerado los siguientes aspectos: manejo del pastoreo con opciones como rotación de potreros para reducir la reinfección de animales (Merlín et al., 2016), la suplementación estratégica de ovejas para mejorar su inmunidad, principalmente durante las situaciones de mayor estrés fisiológico, es decir, gestación y lactancia (Torres-Acosta et al., 2012), desparasitación selectiva basada en el color de la conjuntiva llamado método FAMACHA (Molento et al., 2009), condición corporal, diarrea y otras medidas de manejo (Ouzir et al., 2011). También la selección de animales resistentes contra NGI se ha utilizado para hacer un menor uso de los antihelmínticos y junto con alternativas como agrupación y manejo de animales en función de su etapa fisiológica (Saddiqi et al. 2012) ha mostrado ser un método sustentable en la producción de carne de ovino.

Ante esto se ha planteado como objetivo desarrollar un conjunto de actividades de manejo para el control de nematodos bajo un sistema de producción de ovinos en un modelo de pariciones aceleradas.

Modelo de pariciones aceleradas.

Al inicio del estudio se forman cinco grupos de animales de acuerdo al estado fisiológico: Ovejas gestantes, ovejas vacías y lactantes, ovejas de reemplazo, además de los grupos de corderos en crecimiento y los sementales en otro grupo.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Manejo parasitario durante el empadre

Como propuesta se analizará un modelo de pariciones aceleradas con tres épocas de empadre en los meses de marzo, julio y noviembre y por lo tanto las tres épocas de parto ocurrirán en agosto, diciembre y abril respectivamente. Sin embargo los periodos de empadre pueden moverse de acuerdo a las necesidades del productor o bien a las condiciones climáticas de la unidad de producción, siempre y cuando se conserven cuatro meses de diferencia entre cada época de empadre para lograr uniformidad en los ciclos. Cada época de empadre tendrá una duración de 35 días (González *et al.*, 2010), suficiente para dar tres oportunidades a las ovejas de quedar gestantes en dicho periodo, lo que maximiza la posibilidad de gestación. Quince días antes de iniciar la época de empadre, se seleccionan las ovejas que formaran el grupo de hembras vacías y que posteriormente entrarán en reproducción. Este grupo estará conformado por hembras de reemplazo que tengan al menos nueve meses de edad o más de 25 kg; también se incluirán hembras del grupo de ovejas paridas tres meses antes, además de las hembras que formaban el lote de ovejas gestantes y que se detectaron como vacías. Para 25 ovejas se ocupará un semental en cada uno de los empadres.

Antes del apareamiento es posible realizar la desparasitación mediante la técnica FAMACHA y se iniciará la suplementación alimenticia con algún alimento proteico-energético (20 % de proteína) a razón de 250 gramos por hembra, eso les permite que tengan mejor condición corporal, mejores funciones inmunológicas y además una mayor tasa de ovulación (Koeslag, 1990); además de que es un momento en que la aplicación de los productos químicos no afecta a la hembra ni al proceso de gestación que aún no se efectúa.

### Manejo parasitario en ovejas gestantes

En esta etapa el sistema inmunológico de las ovejas es muy fuerte y los conteos fecales de huevos de nematodos no superan los 1000 HPG y por ello no se requiere hacer una desparasitación tan frecuente (Figura 1).

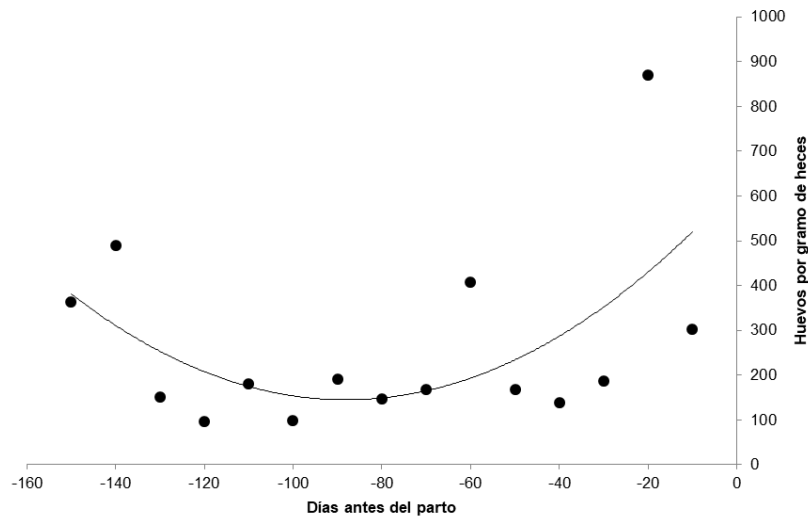


Figura 1. Conteos fecales de huevos de nematodos durante la gestación en ovejas cruce Pelibuey\*Katahdin.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Durante los primeros cuatro meses de gestación es posible seguir un control integral, en este periodo se deberá revisar el lote de hembras gestantes cada 30 días y únicamente desparasitar aquellas hembras que lo requieran con base en la condición corporal + el color de la mucosa ocular (palpebral) y de ser posible la confirmación del número de huevos por gramo de heces de nematodos (HPG), lo cual tendrá como ventaja que se dosificará únicamente a los animales que lo requieran (3-4 de la carta FAMACHA©) y por otra parte también es posible detectar y registrar aquellos animales con gran susceptibilidad que deben ser eliminados del rebaño (Torres-Acosta et al., 2014). Con esta técnica se busca realizar la menor selección en los parásitos hacia la resistencia y por otra parte desechar aquellos animales con gran susceptibilidad a los parásitos.

Otra herramienta que es posible utilizar en el lote de ovejas gestantes (cinco meses de gestación) es el manejo de potreros, a través del pastoreo rotacional. Con este sistema se busca que las larvas infectantes en los potreros (el refugio) se reduzcan conforme se incrementa el periodo de descanso. Debido a que los huevos se transforman hasta larva infectante en cinco o seis días, se recomienda que los periodos de ocupación sean menos de cinco días y el de descanso del potrero sea por lo menos de 30 a 32 días. Debido a que los pastos en climas cálidos se maduran muy rápido, no es conveniente dejar mayor tiempo de descanso ya que resulta contraproducente para aprovechar los forrajes. Así que se pueden destinar seis potreros para el grupo de hembras gestantes, con seis días de ocupación y 30 de descanso.

Trabajos hechos en Guadalupe y Fidji (Hoste, 2002) indican que el sistema de pastoreo rotacional con periodos de ocupación de 3.5 días y en los que regresaban al potrero a los 35 días, disminuía a casi la mitad el número de huevos de nematodos. Por esta situación la rotación de potreros en la que los animales regresan después de dos meses, ha demostrado ser exitosa bajo condiciones tropicales, ya que, en climas tropicales, las larvas sobreviven de dos a tres meses (Hoste, 2002).

### Manejo parasitario durante la lactancia

Alrededor del parto y durante la lactación, la inmunidad de las ovejas disminuye y ocurre un fenómeno conocido como alza periparto, en el que una gran cantidad de huevos de NGI aparecen en las heces (Figura 2).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

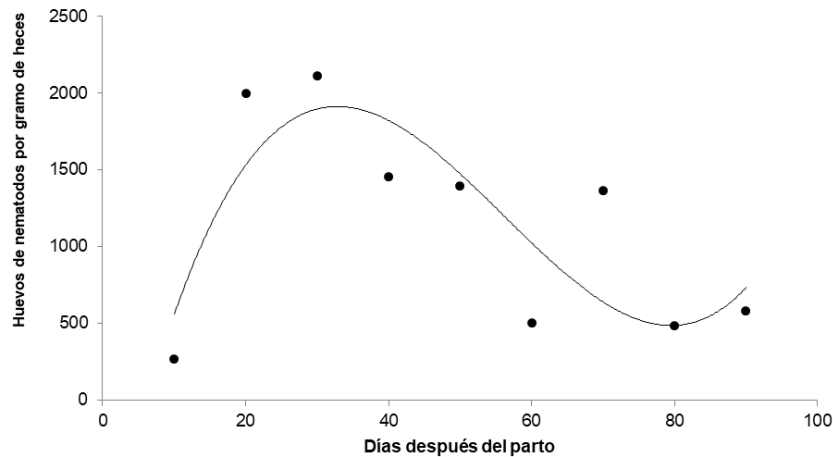


Figura 2. Conteos fecales de huevos de nematodos durante la lactancia en ovejas cruce Pelibuey\*Katahdin.

En este periodo es importante detectar aquellas hembras que son altamente susceptibles las cuales deben ser tratadas con antihelmínticos para evitar la contaminación de las pasturas e impedir que los corderos sean infectados (Cuadro 1). Después del parto el 43% de las ovejas requieren al menos una desparasitación porque superan el umbral considerado riesgoso para la salud de los animales (1000 HPG) y un 70% requiere de dos aplicaciones durante toda la lactancia, por lo que es recomendable al menos una desparasitación después del parto para reducir los conteos de huevos de NGI y posteriormente realizar una desparasitación selectiva, con ello se reducirá la cantidad de desparasitante aplicado.

Cuadro 1. Desparasitación selectiva de ovejas durante la gestación y la lactancia en ovejas cruce Pelibuey\*Katahdin con base en un umbral de 1000 huevos por gramo de heces.

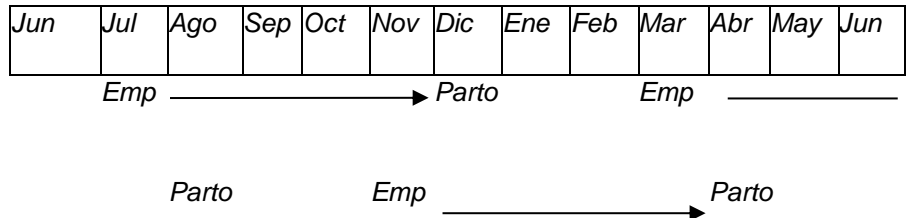
Aplicaciones	Gestación		Lactancia	
	ovejas	%	ovejas	%
5	1	2.2		
3	0	0	2	5.4
2	5	10.9	10	27.0
1	11	23.9	16	43.2
0	29	63.0	9	24.3
	46	100	37	100



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Manejo alimenticio. Durante la lactancia es recomendable que las ovejas reciban suplementación alimenticia al menos durante los primeros 60 días

Cuadro 2. Manejo de ovinos de pelo y relación de actividades en el modelo de pariciones aceleradas con empadres y partos cada ocho meses, en ovejas Pelibuey.



Manejo reproductivo

Selección de hembras para empadre ( hembras vacías)	15				15				15				15
Juntar un semental con 25-40 ovejas		1				1				1			
Separación del semental del lote de ovejas en empadre			5				5				5		
Pesaje y registro de nacimientos			1	5			1	5			1	5	

Manejo sanitario

Desparasitación de ovejas vacías	15				15				15				15
Destete de corderos (grupo 1), pesaje, aretado, desparasitación.					15				15				15
Destete de corderos (grupo 2), pesaje, aretado, desparasitación.					30				30				30
Desparasitación de cordero, post destetes						15	15	15		15	15	15	
Desparasitación de hembras lactando				15	15			15	15			15	15



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Manejo alimenticio

Proporcionar 250 gramos de concentrado por hembra vacía y a los sementales	15-30				15-30				15-30				15-30
Proporcionar concentrado a hembras lactando			1	30			1	30			1	30	

### Mejoramiento genético

Pesar, ovejas de reemplazo (medidas zoométricas)								15					15
--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	----

Una ventaja del modelo de pariciones aceleradas es que se logran grupos uniformes de animales en similar estado fisiológico, lo que permite mantener corderitos en encierro durante el periodo de lactancia y se evita que se infecten durante el pastoreo, sobre todo cuando las hembras lactantes eliminan una gran cantidad de huevos de nematodos durante esta fase. Cerca del destete o posterior a este es deseable estimular la inmunidad del animal permitiendo que pastoree por breves periodos de tiempo y alternando con suplementación alimenticia de modo que después de dos o tres reinfecciones el animal tenga mayor resistencia a parásitos.

En este modelo también se considera el efecto macho, por lo que los sementales se deben mantener alejados de las hembras por lo menos quince días antes de iniciar el empadre (Contreras, 2000).

### Referencias bibliográficas

- Charlier, J., Morgan, E.R., Rinaldi, L., Van Dijk, J., Demeler, J., Höglund, J., Hertzberg, H., Van Ranst, B., Hendrickx, G., Vercruyssen, L., Kenyon, F., 2014. Practices to optimise gastrointestinal nematode control on sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. *Vet. Rec.* 175(10), 250-255.
- Contreras S., I. 2000. Efecto de la presencia del carnero sobre la actividad ovárica portparto en ovejas tropicales de la raza West African. Universidad Central de Venezuela. Facultad de ciencias Veterinaria. Postgrado de Reproducción Animal y Tecnología de la Inseminación Artificial. Banco del Caribe. Pp 27- 31.
- Cruz-Rojo, M.A., Martínez-Valladares, M. & Rojo-Vázquez, F.A. (2012). *Teladorsagia circumcincta* antibodies in serum and milk samples in experimentally infected lactating ewes. *Veterinary Parasitology* 188: 386-390. <http://doi:10.1016/j.vetpar.2012.04.006>
- González-Garduño, R., Torres-Hernández, G., & Arece-García, J. (2010). Comportamiento productivo y reproductivo de ovinos Pelibuey en un sistema de pariciones aceleradas con tres épocas de empadre al año. *Zootecnia Tropical*, 28(1), 51-56.
- Hoste, H. 2002. Manejo del pastoreo para el control de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes. En: 2º Curso Internacional "Epidemiología y Control Integral de Nematodos



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Gastrointestinales de Importancia Económica en Pequeños Rumiantes” Ed. Torres A., J. F., y A. Aguilar C. Fundación Produce Yucatán A. C. Mérida, Yuc. Pp. 77-81
- Koeslag, J. H. 1990. Ovinos. 2ª. Edición. Editorial Trillas: SEP. México, D.F. 91 p.
- Macarthur, F.A., Kahn, L.P. & Windon, R.G. (2013). Immune response of twin-bearing Merino ewes when infected with *Haemonchus contortus*: Effects of fat score and prepartum supplementation. *Livestock Science* **157**: 568-576. <http://doi:10.1016/j.livsci.2013.08.017>
- Merlín, A., Chauvin, A., Madouasse, A., Froger, S., Bareille, N., Chartier, C., 2016. Explaining variability in first grazing season heifer growth combining individually measured parasitological and clinical indicators with exposure to gastrointestinal nematode infection based on grazing management practice. *Vet. Parasitol.* 225, 61-69.
- Molento, M.B., Gavião, A.A., Depner, R.A., Pires, C.C., 2009. Frequency of treatment and production performance using the FAMACHA method compared with preventive control in ewes. *Vet. Parasitol.* 162(3), 314-319.
- Ouzir, M., Berrag, B., Benjouad, A., Cabaret, J., 2011. Use of pathophysiological indicators for individual decision of anthelmintic treatment of ewes against gastro-intestinal nematodes in Morocco. *Vet. Parasitol.* 180(3), 372-377.
- Saddiqi HA, Jabbar A, Sarwar M, Iqbal Z, Muhammad G, Nisa M, Shahzad A (2011) Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: a case of *Haemonchus contortus*. *Parasitology research* 109, 1483-1500
- Sayers, G., Sweeney, T., 2005. Gastrointestinal nematode infection in sheep—a review of the alternatives to anthelmintics in parasite control. *Animal Health Res. Rev.* 6(2), 159-171.
- Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Aguilar-Caballero, A.J., Cámara-Sarmiento, R., Alonso-Díaz, M.A., 2012. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical condition. *Small Rumin. Res.* 103(1), 28-40.
- Torres-Acosta, J. F. J., Pérez-Cruz, M., Canul-Ku, H. L., Soto-Barrientos, N., Cámara-Sarmiento, R., Aguilar-Caballero, A. J., ... & Hoste, H. (2014). Building a combined targeted selective treatment scheme against gastrointestinal nematodes in tropical goats. *Small Ruminant Research*, 121(1), 27-35.
- Zeryehun, T. (2012). Helminthosis of sheep and goats in and around Haramaya, Southeastern Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 4(3): 48-55. <http://doi:10.5897/JVMAH12.0014>



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO FORO DE GARRAPATAS (Bayer)

### MONITOREO NACIONAL DE LA RESISTENCIA DE *Rhipicephalus microplus* A LOS ACARICIDAS CONVENCIONALES (COUMAFOS, AMITRAZ Y FLUMETRINA) E IVERMECTINA EN RANCHOS BOVINOS DE MEXICO

### NATIONAL MONITORING OF *Rhipicephalus microplus* RESISTANT TO CONVENTIONAL ACARICIDES (COUMAPHOS, AMITRAZ AND FLUMETHRIN) AND IVERMECTIN EN CATTLE FARMS OF MEXICO

Rodriguez VRI<sup>1</sup>, Ramírez EE<sup>2</sup>, Lozano BI<sup>2</sup>, Ojeda CMM<sup>1</sup>, Trinidad MM<sup>1</sup>, Torres IJA<sup>2</sup>, Bhushan C<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, km. 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Código Postal 97000, Mérida, México.

<sup>2</sup>Miguel de Cervantes Saavedra 259, Col. Ampliación Granada Delegación Miguel Hidalgo CP 11520 Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Bayer Animal Health GmbH, Kaiser-Wilhelm-Allee 20, 51368 Leverkusen, Germany. rvivas@correo.uady.mx

Palabras clave: *Rhipicephalus microplus*, acaricidas, resistencia.

#### Resumen

La garrapata *Rhipicephalus microplus* se distribuye ampliamente en regiones tropicales y subtropicales del mundo donde la ganadería tiene una actividad de importancia económica. Una de las principales medidas de control de las garrapatas es el uso de acaricidas y lactonas macrocíclicas (ML), que se han utilizado indiscriminadamente en todo el mundo. En México no se dispone de información sobre la distribución nacional de los niveles de resistencia de poblaciones de campo de *R. microplus* a los acaricidas convencionales y LM. Para este estudio, se recolectaron poblaciones de garrapatas en 42 ranchos de 12 estados diferentes en México y se determinó el nivel de resistencia a diferentes acaricidas e ivermectina. Se realizaron bioensayos de dosis-respuesta mediante las pruebas de paquete de larvas modificado (coumafós y flumetrina) y prueba de inmersión larvaria (amitraz e ivermectina) contra *R. microplus*. Los datos de mortalidad se sometieron a un análisis probit para calcular las concentraciones letales al 50%. Se utilizó un modelo de regresión logística para evaluar la asociación entre la resistencia y los posibles factores. El fenotipo se definió como susceptible, de baja resistencia o de alta resistencia. La prevalencia global de ranchos con *R. microplus* resistente a coumafós, amitraz, flumetrina e ivermectina fue del 19.0%, 52.4%, 45.2% y 85.7%, respectivamente. Para coumafós, 80.9%, 14.3% y 4.8% de los fenotipos fueron susceptibles, baja resistencia y alta resistencia respectivamente, mientras que para amitraz, 47.6%, 26.2% y 26.2% de los fenotipos fueron susceptibles, baja resistencia y alta resistencia, respectivamente. Para ivermectina y flumetrina, el 85,7% y el 45,2% de los fenotipos fueron resistentes (resistencia baja y alta) respectivamente. Se identificó que los ranchos sin un programa de rotación de acaricidas (OR: 9.16, IC95%: 1.70-48.40, P: 0.009) tenían mayor probabilidad de desarrollar *R. microplus* resistente al amitraz. Se concluye que la resistencia de *R. microplus* a amitraz, flumetrina e ivermectina es común en ranchos de México. Sin embargo, a pesar del uso intensivo del coumafós durante muchos años en el control de *R. microplus* en ranchos bovinos, este acaricida todavía puede usarse como una herramienta para el control de esta especie de garrapata.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## NUEVAS ALTERNATIVAS A UTILIZAR DENTRO DE UN CONTROL INTEGRADO DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus*

Alonso DMA, Fernández SA

\*Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical. Facultad de Medicina y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

### Introducción

*Rhipicephalus microplus* (Canestrini 1887) (Ixodida: Ixodidae) es uno de los parásitos más importantes que afecta al ganado bovino en pastoreo, en todo el mundo. Las pérdidas económicas que causan varían de 13.9 a 18.7 billones de dólares por año a nivel mundial (de Castro et al., 1997); y en México, las pérdidas económicas causadas por *R. microplus* son de 573.61 millones de dólares al año (Rodríguez-Vivas et al., 2017). Lo anterior, es por la afectación a los parámetros productivos, reproductivos y al bienestar animal. Este impacto económico se encuentra exacerbado por el desarrollo de garrapatas resistentes y multirresistentes a los acaricidas químicos. Su distribución en las zonas ganaderas del mundo es amplia (80% de los bovinos del mundo están expuestos a garrapatas), y cada vez, con mayor frecuencia se reportan hallazgos y aumento de poblaciones o patógenos transmitidos en nuevas regiones (Montero et al., 2016), muchas veces atribuidas al efecto del cambio climático.

En este nuevo contexto, la emergencia de garrapatas resistentes combinado con el efecto del cambio climático en la ecoepidemiología de la misma, y aunado a la necesidad de disminuir el uso de productos químicos, hacen necesaria la búsqueda de alternativas de control de garrapatas que, además, puedan ser incorporados en un protocolo de control integrado de garrapatas.

Las principales alternativas que se han estudiado para el control de garrapatas incluyen microorganismos causantes de enfermedades en artrópodos, manejo cultural y estratégico de potreros, inclusión de razas resistentes a las infestaciones y el uso de vacunas.

### Objetivos

- a) Describir algunas estrategias de control no químico que se pueden considerar en un esquema de control integrado de garrapatas.
- b) Mencionar las experiencias del manejo integrado de garrapatas *R. microplus* obtenidas en las zonas tropicales de México.
- c) Dar a conocer la situación actual del movimiento geográfico de las garrapatas a nivel mundial dentro de un panorama donde el cambio climático juega un papel fundamental.

### *Rhipicephalus microplus*

Esta garrapata es un parásito hematófago obligado y es uno de los principales problemas que afectan al ganado bovino en pastoreo en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. El control



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de esta garrapata se ha basado en la administración frecuente de acaricidas químicos a través del año (Fernández-Salas et al. 2012), los cuales definitivamente han contribuido a mejorar la productividad y el bienestar animal de los rumiantes en pastoreo; pero también se ha demostrado que esta forma de control, no es una práctica sustentable. El desarrollo de resistencia de estos ectoparásitos a los acaricidas en las unidades de producción bovina (UPB), representa una amenaza adicional, debido a que se dificulta más su control y aumentan las pérdidas económicas por incrementar la frecuencia y las dosis a través del año.

Es importante remarcar que los acaricidas continúan siendo indispensables en el control de garrapatas, por lo que es necesario prolongar su eficacia y retrasar el desarrollo de resistencia. Para lograr esto, se sugiere conocer, evaluar y adoptar otras estrategias de control alternativo para poder diseñar un esquema adecuado de control integrado de garrapatas. Se ha mencionado que la mejor forma de controlar a los parásitos en las UPB es combatirlos simultáneamente por diferentes vías, al hacer esto, los parásitos tienen menor capacidad de defenderse y de desarrollar resistencia. En México, existen excelentes grupos de investigación que han contribuido en la generación y difusión de resultados sobre nuevas estrategias de control que pueden ser utilizadas para cubrir los objetivos antes mencionados en el marco de un manejo integrado de garrapatas.

Alternativas para integrar en un esquema de control integrado de *R. microplus*

- Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos (HE) son considerados como agentes biológicos con potencial para ser usados en el control de plagas, tanto agrícolas como pecuarias (Barreto et al., 2004). Básicamente todos los insectos y en especial los causantes de daños a plantas y animales, son susceptibles a los efectos patológicos causados por estos hongos, incluyendo las garrapatas y sus diferentes estadios (Fernandes y Bittencourt, 2008; Fernández-Salas et al., 2017, 2018, 2019).

Los HE se consideran una alternativa de control biológico, y algunos investigadores los han señalado como promisorios para el control de garrapatas (Polar et al., 2005). Algunas de las ventajas que ofrecen los HE son: 1) amigables con el medio ambiente, 2) tienen un amplio rango de hospedadores y tienen una alta patogenicidad específica contra artrópodos plagas, 3) son de fácil reproducción a bajo costo, 4) son de rápido crecimiento y abundante esporulación, y 5) no son patogénicos contra mamíferos y plantas (Feng et al. 1994; Fernández-Salas et al., 2017). Los principales HE que se han evaluado para el control de garrapatas en el ganado bovino y sus principales características se describen brevemente en el siguiente cuadro:



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Hongo	Características	T y H Óptima	Comentarios	Referencias
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin	Efecto contra garrapatas: reducción de la alimentación, oviposición y eclosión de huevos. Alta especificidad contra plagas.	25° a 30°C 100% H	Algunas cepas pueden tolerar hasta 40°C en campo y H mínima de 53%. Más de 40°C su desarrollo se detiene.	Dantygni and Nanguy, 2009; Li and Feng, 2009; Kirkland et al., 2004.
<i>Beauveria bassiana</i> (Balsamo) Vuillemin	Agresivo contra insectos y ácaros en diferentes etapas biológicas.	25° a 30° 90-100% H	Algunas cepas se desarrollan a 15°C. <i>Cordyceps bassiana</i> es el estado asexual de <i>Beauveria bassiana</i>	Liu et al., 2002; Shimazu et al., 2002; de Faria and Wraight, 2007; Godoy et al., 2007.
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (Wize) Brown & Smith	<i>P. fumosoroseus</i> ha demostrado alta eficacia contra 25 familias de insectos y varios géneros de garrapatas.	25° a 28°C 70-80% H	Este hongo no crece ni se desarrolla a temperaturas más altas de 32°C.	Angelo et al., 2012; Carr-Pérez et al., 2003; Ortiz-Catón et al., 2011.
<i>Lecanicillium (Verticillium) lecanii</i> (Zimm.) Zare & W. Gams	Las evaluaciones han demostrado alta efectividad contra adultos, huevos y larvas de <i>R. microplus</i> .	23° a 25° C 92.5-100%	Su Desarrollo se detiene a menos de 11°C y después de 32°C.	Angelo et al., 2010; Ortíz-Catón et al., 2011.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Evaluaciones de los hongos entomopatógenos contra la garrapata *Rhipicephalus microplus*

Durante las últimas décadas, se han conducido estudios *in vitro* e *in vivo* para evaluar el efecto de los HE como agentes bio-reguladores de las garrapatas (Gindin et al., 2002; Ojeda-Chi et al., 2010). También se han realizado estudios relacionados a identificar y medir el efecto de las condiciones ambientales (T°, HR y radiación UV) sobre su virulencia y patogenicidad de los hongos (Rangel, et al., 2004). Algunos de los estudios que se han realizado *in vitro* e *in vivo* contra garrapatas se mencionan en el siguiente cuadro:

Hongos	Etapa de <i>R. microplus</i>	Eficacia <i>in vitro</i> (%)	Eficacia <i>in vivo</i> (%)	Dosis (conidia/ml <sup>-1</sup> )		Referencia
				<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	
<i>M. anisopliae</i>	Adultos	100	40 – 91.2	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	Ojeda-Chi et al., 2010 Alonso-Díaz et al., 2007
<i>M. anisopliae</i>	Adultos	100	51.3	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	Ojeda-Chi et al., 2010 Sánchez-Rivera, 2010
<i>M. anisopliae</i>	Larvas y Adultos	96.34 (larvas)	59 (adultas)	10 <sup>10</sup>	10 <sup>10</sup>	Arguedas et al., 2008
<i>B. bassiana</i>	Adultos	81.6	69.5-72.8	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	Bittencourt et al., 1997 Bittencourt et al., 1999
<i>B. bassiana</i>	Adultos	61.8 - 86.5	18.6 - 32.4	10 <sup>5</sup> , 10 <sup>7</sup> , 10 <sup>9</sup>		Campos et al., 2010

Estudios recientes han demostrado la compatibilidad o la contrariedad de los hongos entomopatógenos con otros métodos alternativos para el control de garrapatas. Por ejemplo, se han realizado investigaciones para evaluar la posibilidad de aplicar aceites esenciales (AE) de lavanda, eucalipto y geranio con HE. Se reporta que existen diferentes viabilidades para la aplicación de métodos integrados de control utilizando estos dos componentes. Por ejemplo, se puede utilizar *M. anisopliae* y *B. bassiana* con los aceites esenciales de *Pelargonium graveolens*, sin embargo, *B. bassiana* no funciona cuando se combina con AE de *L. hybrida* (Nardoni et al., 2018).

Además, se están utilizando hongos como *M. anisopliae* en el control de garrapatas de diferentes géneros en combinación con agentes como el fipronil, sinergia que está ayudando a controlar las garrapatas, pero, además, ha disminuido indirectamente la transmisión de agentes patógenos importantes en la salud animal y humana (Williams et al., 2018). Otros estudios han demostrado la capacidad de *M. anisopliae* para controlar poblaciones de garrapatas resistentes y, además, se demostró la capacidad de aplicación de piretroides sintéticos más organofosforados con este HE en una sola aplicación, mejorando la eficacia de los tratamientos (Webster et al., 2015). Del mismo modo Bharkad et al. (2019) demostraron que los hongos *M. anisopliae* tienen la capacidad



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de controlar poblaciones resistentes a deltametrina y amitraz y, en combinación con ellos, mejoraron los porcentajes de inhibición de la eclosión de huevos de *R. microplus*. El uso combinado de HE y algunos acaricidas químicos en condiciones naturales de infestación podría tener buenas perspectivas en cuanto a la inclusión de agentes de control biológico contra garrapatas, particularmente contra poblaciones resistentes. Esto podría estimular el uso y la consolidación del control biológico en profesionistas de la salud animal y dueños de ganaderías.

Es necesario evaluar diferentes cepas de hongos con diversos orígenes, estandarizar protocolos de aplicación para las cepas más relacionadas geográficamente, evaluar en diferentes épocas del año, ya que las variaciones climatológicas cada vez son más impredecibles y realizar evaluaciones en condiciones naturales de infestación. Identificar cepas de HE capaces de controlar diferentes estadios biológicos de garrapatas es el primer paso para desarrollar componentes bioacaricidas de control efectivos y completos. Posteriormente se debe considerar la preparación de fórmulas que permitan el manejo de los hongos, que no afecten su efectividad manteniendo su estabilidad biológica, que no afecten a los animales y aplicadores, que les proporcionen protección a las cepas de las condiciones ambientales como los rayos UV, el estrés por calor y que se pueda aplicar con otros agentes de control. El desarrollo de estas formulaciones es el gran reto para el uso de bioacaricidas adecuados y efectivos.

- Control inmunológico (vacunas antigarrapatas)

El control inmunológico ha emergido como una alternativa costo-beneficio viable contra garrapatas, su mecanismo protector está basado en el desarrollo de anticuerpos específicos de antígeno en los hospederos inmunizados que interactúan y afectan de manera subsecuente a antígenos involucrados en funciones fisiológicas en los tejidos de la garrapata (De la Fuente et al., 2016). A inicios de la década de los noventa, el desarrollo de estos inmunógenos dio como resultado la comercialización de dos vacunas recombinantes contra *R. microplus* a base del antígeno Bm86: TickGard en Australia y Gavac™ en América Latina. El uso en campo de Gavac™ en algunas partes de Cuba, México y Brasil ha demostrado su efectividad para controlar las infestaciones por *R. microplus*, ya que reduce el número de adultas ingurgitadas, su peso y su capacidad reproductiva, reduciendo el número de garrapatas en infestaciones subsecuentes, así como la reducción de la prevalencia de algunas enfermedades transmitidas por garrapatas (Almazán et al., 2018); sin embargo, la eficacia de este antígeno se ha visto limitada contra algunas poblaciones de esta garrapata. En años recientes, se ha hecho énfasis en la identificación y caracterización de nuevos antígenos que sean efectivos no sólo contra *R. microplus*, sino también contra varias poblaciones y especies de garrapatas así como mejorar su clonación molecular y su producción *in vitro* (Ramírez Rodríguez et al., 2016).

Actualmente se utilizan diferentes enfoques experimentales para la identificación de antígenos protectores derivados de garrapatas y derivados de patógenos transmitidos por garrapatas que pueden ser candidatos para la elaboración de vacunas. Estos incluyen: a) detección directa de antígenos protectores, b) selección de antígenos basada en la biología de las garrapatas y sus patógenos transmitidos, c) genética inversa, d) vaccinómica e e) identificación de interacciones proteína-proteína y vías metabólicas conservadas. Entre los antígenos promesa que han reportado eficacia contra más de una especie de garrapatas y que ha tomado importancia en los últimos años es Subolesina (conocido también como 4D8). Este antígeno está involucrado en diferentes procesos



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

biológicos en las garrapatas, incluyendo su desarrollo y la respuesta inmune innata (de la Fuente y Contreras, 2015).

En la búsqueda de un buen inmunógeno que brinde protección contra garrapatas y las enfermedades que transmiten, se ha investigado el uso de nuevas formulaciones basadas en adyuvantes más efectivos, con vías de administración más fáciles y que tengan un efecto de derribe. Un ejemplo de esto, es la reciente formulación de un inmunógeno a base de Subolesina con un adyuvante de *Mycobacterium bovis* (IV) inactivado por calor, y una vía de administración oral. Se evaluó en bovinos infestados artificialmente con *R. microplus*, y tuvo una eficacia del 65% (Contreras et al., 2019). Por otra parte, Willadsen (2008), propone la combinación de al menos dos antígenos en una misma vacuna, ya que se ha reportado un efecto sinérgico, aditivo o de inmunidad cruzada contra múltiples géneros de garrapatas en pruebas utilizando estos cocteles; sin embargo, se han reportado dificultades para algunas mezclas de antígenos, mostrando un aumento en la eficacia a la vacunación de manera moderada en comparación a ciertos antígenos administrados de manera única, debida posiblemente a la competencia antigénica de sus componentes (Olds et al., 2016).

Finalmente, es necesario utilizar diferentes enfoques para encontrar un antígeno con una formulación eficaz para el control de un amplio espectro de garrapatas, que afecte también a diferentes estadios biológicos de éstas y las enfermedades que transmiten.

- Uso de razas resistentes

Desde hace poco más de medio siglo se conoce que el ganado *Bos 1330lste indicus* (Cebú) y las garrapatas co-evolucionaron por mucho tiempo; por lo tanto, estos bovinos desarrollaron una resistencia natural a las infestaciones de garrapatas en comparación al ganado *Bos 1330lste 1330lste* (europeo). Este desarrollo se debe tanto a sus características fenotípicas (pelaje, grosor de piel, conducta, etc.) como a su capacidad de desarrollar una respuesta inmune más eficiente después de una primera infestación. Introducir razas *Bos 1330lste indicus* o sus cruza en las UPB es una alternativa que puede integrarse en un escenario de control de garrapatas en el trópico. La desventaja que puede presentar este método es que puede ser un proceso lento de selección, se requiere la colaboración del ganadero y una evaluación productiva de los animales que se van a utilizar.

Por mencionar algunas experiencias al respecto, en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Ttropical de la FMVZ-UNAM, existe un módulo de producción de vaquillas F1 (Hostein x Cebú) y  $\frac{3}{4}$  cebú x  $\frac{1}{4}$  1330lstein que están bajo un esquema de pastoreo rotacional (35 – 45 días de recuperación). En esta unidad de producción bovina se aplican en promedio dos tratamientos por año para el control de la garrapata *R. microplus*. En la misma región ecológica, pero en otra UPB, al evaluar la dinámica poblacional de *R. microplus* en diferentes genotipos de bovinos, se reportó que los animales  $\frac{3}{4}$  Hostein x  $\frac{1}{4}$  cebú tuvieron mayor número de garrapatas en comparación con los F1 ( $\frac{1}{2}$  Holstein x  $\frac{1}{2}$  cebú) (Alonso-Díaz et al., 2007). Podría ser viable que, dentro de un esquema de un manejo integral de garrapatas, se considere incluir razas de origen cebú en los cruzamientos con la finalidad de mejorar las condiciones de infestaciones por garrapatas, sobre todo en aquellas zonas de alta prevalencia e incidencia de este parásito.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Manejo de potreros

Estas prácticas están relacionadas con el mantenimiento de potreros e involucra actividades como la quema controlada (no recomendada) y la rotación de potreros cuyo principio es modificar o manipular el hábitat. Estas actividades afectan adversamente el desarrollo y la dinámica poblacional de las garrapatas por el efecto que se produce sobre el micro y el mesoclima (Rosario-Cruz et al., 2007). Su mayor efecto es sobre las garrapatas en fase de vida libre y su valor radica en que es un método de control completamente ecológico (Barre, 1988). La principal desventaja de este método es que se necesita un orden riguroso en su ejecución, sobre todo la rotación de los potreros, el empleo de mano de obra, sobre todo en explotaciones muy grandes y que posiblemente se pueden afectar especies de insectos benéficos. En Veracruz, específicamente en el CEIEGT-FMVZ-UNAM, se han realizado esquemas de rotación de potreros en dos predios diferentes (La Soledad y El Clarín). Esta rotación ha permitido no solo la eficiencia de los potreros como principal método de alimentación de los bovinos, sino coadyuvar en el control de nematodos gastrointestinales y garrapatas. Este método ha ayudado a ampliar la frecuencia de baños garrapaticidas al reducir la presencia de posibles hospedadores bovinos para las garrapatas, aumentando la muerte natural de las larvas por inanición alimentaria.

### Situación ecoepidemiológica de las garrapatas en el contexto del cambio climático

Actualmente, desde un punto de vista epidemiológico, las garrapatas han sido desafiadas en diferentes zonas, hospedadores y climas inestables, lo que ha provocado su exposición a variables condiciones ambientales, logrando manifestar su presentación, adaptabilidad y establecimiento donde antes no se encontraban comúnmente.

Estos cambios en los patrones geográficos de las garrapatas, han sido consecuencia de factores inherentes a los cambios climatológicos que se presentan en la actualidad. Por citar algunos ejemplos: los cambios en los movimientos migratorios de aves y otras especies (Barré y Uilenberg, 2010), el aumento de la temperatura y la humedad en algunas regiones (López-Velez y Molina-Moreno, 2005), la presencia de nuevos hospedadores potenciales para las garrapatas por efecto de la deforestación, entre otras características (Rodríguez-Vivas et al., 2013). Además de su presencia, es importante considerar un posible cambio complejo en la ecología de las garrapatas, ya que los ciclos biológicos pueden estar siendo afectados por estas condiciones, así como la presentación de géneros y especies resistentes y multirresistentes a los químicos usados para su control.

Conocer y comprender la situación epidemiológica y ecológica de las garrapatas dentro del contexto del cambio climático, puede ayudar a establecer mejores modelos de control y erradicación en aquellas zonas donde son un problema endémico y/o mejorar los protocolos de mantenimiento de “zona libre” en aquellas regiones o ecosistemas donde no están presentes.

Estos cambios, afectan directa e indirectamente la ecología y la biología de diversos organismos presentes en el planeta, ya que muchos ciclos de vida dependen en gran medida de estas características ambientales. Por mencionar algunas de las más importantes, se mencionan temperaturas más cálidas, patrones alterados de precipitación, incremento en la frecuencia y severidad de eventos climáticos extremos (como huracanes o sequías) y elevación del nivel del mar (Kutz et al., 2009).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Hallazgo de garrapatas nuevas

Recientemente, y de la mano del desarrollo genético, nuevas especies y géneros de garrapatas han sido identificados o reclasificados, y cada una de estas “nuevas” garrapatas, presenta características que les pueden ayudar a persistir o adaptarse a nuevas áreas geográficas. Por ejemplo, la garrapata asiática de los cuernos largos o *Haemaphysalis longicornis*, ha sido descubierta en Asia y recientemente apareció en varios estados del noreste de los Estados Unidos en ovejas (Rainey et al., 2018). De las principales características biológicas que presenta esta garrapata, es su capacidad de reproducirse asexualmente mediante partenogénesis, lo que hace más fácil su adaptación y distribución en diversas zonas, además, tiene la capacidad de infestar hospederos como: bovinos, equinos, perros, gatos, mamíferos silvestres, pájaros, humanos y otros animales (Beard et al., 2018). La misma situación para Alaska, donde se han reportado el hallazgo reciente de garrapatas no nativas de la región, tales como *Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis* *Ixodes ricinus* y *Dermacentor variabilis*. Los autores del estudio mencionan que, en algunos casos, los animales infestados no presentaron historial de transporte, sugiriendo que estas garrapatas tienen la capacidad de establecerse en Alaska y sus condiciones ambientales (Durden et al., 2016).

### Establecimiento de garrapatas en zonas no endémicas

De acuerdo a algunos estudios de modelos predictivos climáticos, se sabe que las garrapatas *Rhipicephalus* spp. tienen un alto potencial de extender sus rangos de distribución (Olwoch et al., 2007). Algunos estudios, basados en imágenes satelitales y métodos geoestadísticos, mencionan que algunas situaciones de calentamiento ambiental y variaciones en la vegetación, pueden provocar el establecimiento de nuevos focos de garrapatas en áreas demasiado frías. Las variaciones ecológicas y de comportamiento de hospederos podrían apoyar más estos estudios de cambios en la distribución de estas garrapatas (Reiter, 2008).

Sin embargo, con estos reportes, se ha demostrado que las garrapatas tienen la capacidad de establecerse en nuevos hábitats bajo condiciones variables, aumentando el problema de su presencia y la aparición de las enfermedades que puedan transmitir. Por ejemplo, se ha reportado la ampliación de la presencia de *Ixodes ricinus* en el norte de Suecia (antes no se presentaba), y el fenómeno se atribuyó a los cambios en la temperatura durante varias estaciones, favorables para la sobrevivencia, actividad y desarrollo de la garrapata (Lindgren, 2000). El mismo caso se presenta con *Dermacentor albipictus* en Canadá, donde se maneja la teoría de la expansión geográfica de esta garrapata hacia el Norte, atribuido principalmente al cambio climático y al aumento de la población de hospedadores (Kutz, 2009). En República Checa se ha reportado un aumento de la temperatura ambiental promedio, lo que ha causado la presencia de garrapatas *I. ricinus* en zonas altas no endémicas (Cortés, 2010). Incluso, y de manera alarmante, ya se han encontrado garrapatas *Ixodes* en pingüinos antárticos, las cuales han tenido la capacidad de transmitir parásitos como *Babesia* en estos animales, este hallazgo, según reportes de los investigadores, está beneficiado por el aumento de la temperatura en estas zonas (Montero et al., 2016).

### Conclusiones

Se concluye que existen avances muy promisorios en la búsqueda, hallazgo y aplicación de métodos alternativos para el control de *R. microplus* y poder incluirlos en un programa integrado de garrapatas. Existen programas de control integrado exitosos en México; sin embargo, es necesario





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

conocer y discutir las razones del porqué existen pocas UPB que adopten un manejo integrado de garrapatas. Los métodos para mitigar el efecto de las garrapatas en el ganado bovino tienen una amplia diversidad y tiene aplicaciones sencillas que se pueden establecer en las UPB. Es importante conocer los métodos que existen para controlar las garrapatas, sin embargo, es importante reconocer la participación del cambio climático en el comportamiento biológico y ecológico de las garrapatas para diseñar adecuados protocolos de control. Además, la situación epidemiológica de estas garrapatas está en constante cambio debido a la variación de las condiciones ambientales mundiales.

### Referencias bibliográficas

- Almazán, C., Tipacamu, G.A., Rodríguez, S., Mosqueda, J., Pérez de León, A. 2018. Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production. *Frontiers in bioscience*, 23: 1535-1551.
- Alonso-Díaz MA, García L, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Ángel-Sahagun CA, Rodríguez-Vivas RI, Fragoso-Sánchez H. 2007. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 147: 336-340.
- Barré, N., Uilenberg, G. 2010. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 29: 149-160.
- Barreto, C.C., Staats, C.C., Schrank, A., Vainstein, M.N. 2004. Distribution of Chitinases in the Entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and Effect of *N*-Acetylglucosamine in Protein Secretion. *Current Microbiology*, 48: 102-107.
- Beard, C. B., Occi, J., Bonilla, D. L., Egizi, A. M., Fonseca, D. M., Mertins, J. W., Brown, J. 2018. Multistate infestation with the exotic disease-vector tick *Haemaphysalis longicornis*—United States, August 2017–September 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 67: 1310.
- Bharkad, G. P., Palampalle, H. Y., Narladkar, B. W., Bannalika, A. S., Zende, R. J., Ingole, S. D., & Patil, S. S. A. K. 2019. Hatchability of eggs of deltamethrin and amitraz resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* of Maharashtra state on treatment with acaropathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*.
- Contreras-Rojo, M., Kasija, P.D., Merino, O., de la Cruz, N.I., Gortazar, C., De la Fuente J. 2019. Oral vaccination with a formulation combining *Rhipicephalus microplus* Subolesin with heat inactivated *Mycobacterium bovis* reduces tick infestations in cattle. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9: 45.
- Cortés, J.A. 2010. Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global. *Rev. Med. Vet. Zoot*, 57: 65-75.
- De Castro J. 1997. Sustainable tick. *Veterinary Parasitology*, 71: 77-97.
- De la Fuente, J., Contreras, M. 2015. Tick vaccines: current status and future directions. *Expert review of vaccines*, 14: 1367-1376.
- de la Fuente, J., Kopáček, P., Lew-Tabor, A., Maritz-Olivier, C. 2016. Strategies for new and improved vaccines against ticks and tick-borne diseases. *Parasite immunology*, 38: 754-769.
- Durden, L.A., Beckmen, K.B., Gerlach, R.F. 2016. New Records of Ticks (Acari: Ixodidae) From Dogs, Cats, Humans, and Some Wild Vertebrates in Alaska: Invasion Potential, *Journal of Medical Entomology*, 53: 1391–1395.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Feng, M.G., Poprawski, T.J., Khachatourians, G.G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*, 4: 3-34.
- Fernandes, E.K.K., Bittencourt, V.E.R.P. 2008. Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Exp Appl Acarol*, 46: 71–93.
- Fernández-Salas, A., Alonso-Díaz, M.A., Alonso-Morales, R.A. 2019. Effect of entomopathogenic native fungi from paddock soils against *Rhipicephalus microplus* larvae with different toxicological behaviors to acaricides. *Experimental Parasitology*, 107729.
- Fernández-Salas, A., Alonso-Díaz, M.A., Alonso-Morales, R.A., Lezama-Gutiérrez, R., Rodríguez-Rodríguez, J.C., Cervantes-Chávez, J.A. 2017. Acaricidal activity of *Metarhizium anisopliae* isolated from paddocks in the Mexican tropics against two populations of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 31, 36-43.
- Fernández-Salas, A., Alonso-Díaz, M.Á., Morales, R.A.A., Lezama-Gutiérrez, R., Cervantes-Chávez, J.A. 2018. Phylogenetic relationships and acaricidal effects of *Beauveria bassiana* obtained from cattle farm soils against *Rhipicephalus microplus*. *Journal of Parasitology*, 104: 275-283.
- Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R.I., Alonso-Díaz, M.A. 2012. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 183: 338-342.
- Gindin, G., Samish, M., Zangi, G., Mishoutchenko, A., Glazer, I. 2002. The susceptibility of different species and stages of ticks to entomopathogenic fungi. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 283–288.
- Kutz, S., Jenkins, E., Veitch, A., Ducrocq, J., Polley, L., Elkin, B. 2009. The Arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. *Veterinary Parasitology*, 163: 217-28.
- Kutz, S., Jenkins, E., Veitch, A., Ducrocq, J., Polley, L., Elkin, B. 2009. The Arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. *Vet Parasitol*, 163: 217-28.
- Lindgren, E., Tälleklint, L., Polfeldt, T. 2000. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes Ricinus*. *Environ Health Perspect*, 108: 119-123.
- López-Vélez, R., y Molina Moreno, R. 2005. Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Revista Española de Salud Pública*, 79: 177-190.
- Montero, E., González, L. M., Chaparro, A., Benzal, J., Bertellotti, M., Masero, J. A., Colominas-Ciuró, R., Vidal, V., Barbosa, A. 2016. First record of *Babesia* sp. in Antarctic penguins. *Ticks and tick-borne diseases*, 7: 498-501.
- Nardoni, S., Ebani, V. V., D'Ascenzi, C., Pistelli, L., & Mancianti, F. 2018. Sensitivity of entomopathogenic fungi and bacteria to plants secondary metabolites, for an alternative control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle. *Frontiers in pharmacology*, 9: 937.
- Ojeda-Chi, M.M., Rodríguez-Vivas, R.I., Galindo-Velasco, E., Lezama-Gutiérrez, R. 2010. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* (*Acari: Ixodidae*) in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol*, 170: 348-354.
- Olds, C.L., Mwaura, S., Odongo, D.O., Scoles, G.A., Bishop, R., Daubenberger, C. 2016. Induction of humoral immune response to multiple recombinant *Rhipicephalus appendiculatus* antigens and their effect on tick feeding success and pathogen transmission. *Parasites & vectors*, 9: 484.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Olwoch, J., Van Jaarsveld, A.S., Scholtz, C.H., Horak, I.G. 2007. Climate change and genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae) in Africa. *J Vet Res*, 74: 45-72.
- Polar, P., de Muro, M.A., Kairo, M.T.K., Moore, D., Pegram, R., Sally-Ann, J., Roach-Benn, C. 2005. Thermal characteristics of *Metarhizium anisopliae* isolates important for the development of biological pesticides for the control of cattle ticks. *Veterinary Parasitology*, 134: 159-167.
- Rainey, T., Occi, J.L., Robbins, R.G., Egizi, A. 2018. Discovery of *Haemaphysalis longicornis* (Ixodida: Ixodidae) Parasitizing a Sheep in New Jersey, United States. *Journal of Medical Entomology*, 55: 757-759.
- Ramírez-Rodríguez, P.B., Rosario Cruz, R., Domínguez García, D.I., Hernández Gutiérrez, R., Lagunes Quintanilla, R.E., Ortuño Sahagún, D., González Castillo, C., Gutiérrez Ortega, A., Herrera Rodríguez, S.E., Vallejo Cardona, A., Martínez Velázquez, M. 2016. Identification of immunogenic proteins from ovarian tissue and recognized in larval extracts of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, through an immunoproteomic approach. *Experimental parasitology*, 170: 227-235.
- Rangel, D.E.N., Braga, G.U.L., Flint, S.D., Anderson, A.J., Roberts, D.W. 2004. Variations in UV-B tolerance and germination speed of *Metarhizium anisopliae* conidia produced on insects and artificial substrates. *J. Invertebr. Pathol*, 87, 77-83.
- Reiter, P. 2008. Climate change and mosquito-borne disease: knowing the horse before hitching the cart. *Rev Sci Tech (Off Int Epiz)*, 27: 383-98.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Ojeda-Chi, M. M., Rosado-Aguilar, J. A., Trinidad-Martínez, I. C., Torres-Acosta, J. F. J., Ticante-Perez, V., Castro-Marín, J.M., Tapia-Moo, C.A., Vázquez-Gómez, G. 2013. Red deer (*Cervus elaphus*) as a host for the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in Yucatan, Mexico. *Experimental and applied acarology*, 60: 543-552.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Grisi, L., Pérez de León, A.A., Silva Villela, H., Torres Acosta, J.F.J., Fragosó Sánchez, H., Romero Salas, D., Rosario Cruz, R., Saldierna, F., García Carrasco, D. 2017. Evaluación del impacto económico potencial de los parásitos del ganado bovino en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8: 61-74.
- Rosario-Cruz, R., Domínguez-García, D.I., Hernández-Ortiz, R., Rojas-Ramirez, E. 2007. Estrategias para el control integral de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia. CENID-PAVET INIFAP, Jiutepec. Morelos, México. 12 pp.
- Webster, A., Reck, J., Santi, L., Souza, U. A., Dall'Agnol, B., Klafke, G. M., Schrank, A. 2015. Integrated control of an acaricide-resistant strain of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* by applying *Metarhizium anisopliae* associated with cypermethrin and chlorpyrifos under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 207: 302-308.
- Willadsen, P. 2008. Antigen cocktails: valid hypothesis or unsubstantiated hope. *Parasitology Today*, 24: 164-167.
- Williams, S. C., Stafford III, K. C., Molaei, G., & Linske, M. A. 2018. Integrated control of nymphal *Ixodes scapularis*: effectiveness of white-tailed deer reduction, the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*, and fipronil-based rodent bait boxes. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 18: 55-64.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## RESPUESTA TOXICOLÓGICA DE DIFERENTES GÉNEROS Y ESPECIES DE GARRAPATAS IXODIDAS COLECTADAS EN MÉXICO.

### TOXICOLOGICAL RESPONSE OF DIFFERENT GENERA AND SPECIES OF IXODIDE TICKS COLLECTED IN MEXICO

Martínez, IF\*, De Labra, VG, Osorio, MJ.

Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. SENASICA. SADER  
pacomtzi@yahoo.com.mx

Palabras claves: Toxicología, Garrapatas, Resistencia, Susceptibilidad

#### Introducción

En México se han identificado 77 especies de garrapatas Ixodidae, con 7 géneros y 52 especies y Argasidae con 5 géneros y 25 especies. De las 77 especies identificadas, 14 son importantes en la producción animal dentro de la cual se incluye a *B. microplus*, *B. annulatus*, *A. cajennense*, *D. albipictus*, *R. sanguineus*, *A. nitens*, estos géneros de garrapatas presentan el mayor porcentaje de superficie de distribución de México con 27.52, 31.14, 16.53, 15.7 y 11.4% respectivamente (Solis, 1986) Además de *Otobius megnini* que es importante en las inspecciones de ganado para exportación, está presente en todo el país y es una limitante para desarrollar esta actividad productiva.

Las garrapatas se han adaptado a la mayoría de los nichos terrestres del planeta y se han especializado en alimentarse de sangre de mamíferos, aves y reptiles (Castro, *et al.* 2007), la adaptación evolutiva de las garrapatas a la hematofagía, es la principal razón por las que se producen grandes pérdidas económicas, sin embargo el mayor impacto de las infestaciones por garrapatas sobre los animales y el hombre es a través de los patógenos que ellas transmiten (De la Fuente, J., *et al* 2008).

Una de las estrategias más utilizadas para el tratamiento de animales infestados con garrapatas es la aplicación de sustancias químicas sobre el cuerpo de estos, a ciertos intervalos específicos los cuales están determinados por la región ecológica, especie contra la que se va a luchar y la eficacia residual del acaricida a utilizar. La resistencia química a ixodicidas que las garrapatas manifiestan, es una respuesta genética a la intensidad y frecuencia de la aplicación de tratamientos ixodicidas (Ortiz, 1989).

Debido a la importancia que empiezan a tener otros géneros y especies de garrapatas en ganado bovino y en otras especies domésticas y ante la evidencia de la presentación de dificultades para el control de las mismas, mediante la aplicación de los productos químicos, se planteó el siguiente objetivo que fue, determinar el comportamiento toxicológico atípico de las poblaciones de garrapatas de *Boophilus annulatus*, *Dermacentor albipictus*, *Anocentor nitens* como garrapatas de un hospedero y de *Amblyomma mixtum (cajennense)* y *Rhipicephalus sanguineus* como garrapata de tres



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

hospederos, mediante el desafío con los siguientes ixodicidas; lindano, chlorpirifos, coumaphos, diazinon, flumetrina, deltametrina, cypermetrina, amitraz y fipronil en larvas de garrapatas a través la técnica de Shaw y la técnica de Stone & Haydock (Stone, *et al*, 1962 y Shaw, 1966).

### Material y métodos

Consistió en dos fase una de campo donde se colectaron las garrapatas hembras semirepletas (4 a 8 mm de tamaño) y repletas (mayores a 8 mm) directamente de los bovinos y de los perros infestados. La segunda fase fue cuando las muestras de garrapatas llegaron al laboratorio del Resistencia del CENAPA enviadas por médicos clínicos que se dedican a pequeñas especies y por parte del monitoreo nacional que se tiene del Acuerdo de Campaña contra la garrapata *B. microplus*, las muestras colectadas fueron de 12 Estados de la República Mexicana (Campeche, Oaxaca, Veracruz, Baja California Sur, Coahuila, Guanajuato, Zacatecas Jalisco, Tabasco, Puebla, Tamaulipas y Morelos). En el caso de *R. sanguineus* las garrapatas fueron colectadas de cinco municipios del estado directamente de los perros que llevaron a revisión en la clínica veterinaria. Previamente las garrapatas fueron identificadas taxonómicamente para saber y determinar sus géneros y especie, con base en ello conocer su ciclo no parasítico de uno o tres huéspedes, para determinar su retiro de oviposición y después la maduración de las larvas, el cual nos permitió calcular las fechas para realizar las técnicas de diagnóstico de susceptibilidad a los garrapaticidas.

Las garrapatas hembras repletas y semirepletas se mantuvieron en incubadoras bajo condiciones óptimas a  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  de temperatura y 80-90% de humedad relativa para su postura de masa de huevos, 14 y 25 días posteriormente a la colecta, se retiró la masa de huevos y se encapsularon estos, en viales de cristal con capacidad de 1 gramo de huevos para su eclosión. Se utilizaron larvas de garrapatas de un ciclo con edades de 7 a 14 días y de 15 a 30 días para garrapatas de tres ciclos.

Una vez que maduraron las larvas de garrapatas se procedió a realizar las técnicas de diagnóstico de susceptibilidad utilizando las Dosis Discriminantes de *Boophilus microplus*. La técnica de Stone & Haydock permiten detectar poblaciones de larvas de garrapatas con comportamiento atípico a los organoclorados, organofosforados, piretroides y finilpirazolonas (lindano, chlorpirifos, coumaphos, diazinon, flumetrina, deltametrina, cypermetrina y fipronil) mientras que la de Shaw modificada el amitraz.

### Resultados

En el cuadro 1 se presenta los valores de susceptibilidad y mortalidad de la garrapata *A. nitens*, al realizar la técnica de diagnóstico de susceptibilidad a los ixodicidas, esta garrapata expresa susceptibilidad la familia de los clorados, fenilpirazolona y piretroides y sobrevivencia a los organofosforados, excepto en Veracruz (Minatitlan 1 y 2) donde es susceptible al diazinon, para el acaso del amitraz los valores de sobrevivencia son del 44 al 85% en las cuatro muestras analizadas. En el caso de *B. annulatus*, esta se colecto en el norte y centro del país y su respuesta toxicológica a los nueve productos fue de susceptibilidad excepto al amitraz donde se presentó un mortalidad que van del 15.30 al 99.03 %, es decir la población es resistente a esta familia y la mortalidad en Nueva Rosita a deltametrina que fue del 97.22%. Los valores encontrados en *D. albipictus*, es susceptible a los nueve garrapaticidas que se expuso durante 24 y 72 horas.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En el Cuadro 2, se muestran los porcentajes de mortalidad y susceptibilidad obtenidos en *A. mixtum (cajennense)* mediante las dosis discriminantes con diferentes ixodicidas; lindano, chlorfenvinphos, flumetrina expresan porcentajes del 100% en 18 de 19 muestras analizadas a excepción de Zapata con lindano, S.L.M. 2 con chlorfenvinphos y Zapata con flumetrina. Respecto a los otros dos piretroides deltametrina, 15 de 19 muestras son susceptibles y las restantes presentan mortalidades del 65 al 82% y cypermctrina solo 10 muestras son susceptibles respectivamente. Las mortalidades con chlorpiriphos, coumaphos y diazinon son del 0 al 100 %, expresándose la sobrevivencia de larvas a estos organofosforados y en donde hay un mayor número de sobrevivencia es al diazinon teniendo nueve muestras con 0.0% de mortalidad mientras que en los otros dos organofosforados tienen de tres a cuatro muestras susceptible y ambos con mortalidades del 6 al 99%. Respecto al amitraz más del 50% de las muestras son susceptibles y el restante presenta mortalidades que varían entre 67 al 99%, cabe señalar que estas mortalidades son altas con respecto a los organofosforados. Las cepas de *A. mixtum (cajennense)* de Altamirano resultaron más susceptible a los productos incluyendo chlorfenvinphos, pero a los restantes organofosforados presento mortalidades de 0.0 al 35.39%.

El Cuadro 3 observan los porcentajes de mortalidad obtenidos con la técnica de paquete de larva (Stone & Hydock) y la técnica de inmersión de larvas (Shaw). Se analizaron un total de 16 muestras de larvas de *R. sanguineus*, todas ellas ovipositaron perfectamente y eclosionaron muy bien los huevos. Para el lindano 11 muestras fueron susceptibles obteniendo un 100% de mortalidad al aplicar la técnica y solo 5 muestras manifestaron cambios toxicológicos con mortalidades del 27 al 94%. En el caso de fipronil todas las muestras fueron susceptibles obteniendo 100% de mortalidad en ellas. El piretroide, flumetrina fue también de los más tóxicos para las larvas de garrapatas ya que 12 muestras fueron susceptibles y solo 4 presentaron mortalidades que fluctúan de entre el 90 al 99%. Respecto al amitraz solo 6 muestras expresaron susceptibilidad y las 9 restantes con intervalos de mortalidad de entre el 0.39 al 92%.

### Discusión y conclusión

Hay pocos estudios sobre la respuesta toxicológica de *R. sanguineus*, *B. annulatus*, *D. albipictus* y *A. nitens* a las cinco familias de garrapaticidas con los cuales se desafiaron las larvas. El CENAPA realiza actualmente diagnósticos de susceptibilidad con otros géneros de garrapatas que en algunas zonas del país se presentan con mayor frecuencia y que no se sabía su comportamiento toxicológico. Desde hace varios años atrás se sigue monitoreando la respuesta de *A. mixtum (cajennense)* a los ixodicidas de manera más formal.

Los diferentes género y especie de garrapata, a pesar de que presentan un cambio toxicológico significativo a los productos ixodicidas desafiados entre las 24 y 72 horas, hay poblaciones completamente susceptibles como es el caso de *D. albipictus*, no así en *B. annulatus* donde responde toxicológicamente cambios a deltamtrina y amitraz, en el caso de *A. nitens* solo manifiestan comportamiento toxicológico a organofosforados y piretroides.

Los cuatro estados monitoreados para diagnóstico de susceptibilidad en *A. cajennense* presentaron mortalidades a los organofosforados y en menores porcentajes al amitraz y los piretroides, la susceptibilidad se presentó a cuatro productos como son lindano, chlorfenvinphos, Fipronil y flumetrina, con excepción de E. Zapata con lindano y flumetrina y chlorfenvinphos. En 1986 y 1991



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Aguirre y col. reportaron los primeros casos de resistencia en la Huasteca Veracruzana a organofosforados en *A. mixtum (cajennense)*, lo cual seguimos observando y reporta en el presente trabajo utilizando las mismas técnicas de diagnóstico.

Casi todas las muestras de garrapatas fueron colectadas en ganado bovino, excepto las de *R. sanguineus*, con estos datos encontrados se manifiestan los cambios toxicológicos a estos cinco géneros de garrapatas. Cabe resaltar la susceptibilidad que presenta, *D. albipictus* a los ixodicidas, mientras que *B. annulatus* es susceptible, excepto al amitraz. La toxicidad que se presenta en larvas de *A. nitens* a lindano, fipronil y piretroides, para *A. mixtum (cajennense)* a cholfenfosfos, lindano y flumetrina y por último en *R. sanguineus* al fipronil con 100% de mortalidad y alta susceptibilidad a la flumetrina y en menor proporción al amitraz.

Es importante mencionar la existencia de alternativas de control convencionales (aspersión e inmersión) y no convencionales (inyectables y pour-on), las cuales se tiene que moderar y aplicar bajo un sistema de manejo de la resistencia para retardar el desarrollo de esta o alargar su aparición.

### Referencias bibliográficas

- Aguirre, E.J., Sobrino, A.L., Santamaría, V.M., Aburto, A.S., Roman, S.E., Hernández, C.M., Ortiz, E.M. y Ortiz N. A. 1986. Resistencia de las garrapatas en México. Seminario Internacional de Parasitología Animal. Cuernavaca, Mor. México 281-306.
- Aguirre, E.J., Sobrino, A.L., Santamaría, V.M., Ortiz, E.A y Neri O.S. 1991. Estudios acerca de la genética y mecanismos de la resistencia en garrapatas Ixodidae con origen en México. Segundo Seminario Internacional de Parasitología Animal. Oaxtepec, Mor, México 78-95.
- Castro, M.B., Wright, S.A. 2007. Vertebrate hosts of *Ixodes pacificus* (Acari:Axoidea) in California. *Journal of Vector Ecology*. 32: 140-9
- De la Fuente, J., Estrada-Peña, A., Venzal, J.M., Kocan K.M., Sonenshine, D.E. 2008 Overview. Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers in Bioscience*. 13:6938-6946.
- Delabra V.G., Sánchez, F.H., Franco, B.R., Martínez, I.F., Ortiz, N.A., Osorio, M.J., Santamaría V.M. y Soberanes C.N. 1996 Manual de identificación de las garrapatas de importancia en México. CENAPA, CNSA. Dirección General de Salud Animal. SAGAR e IICA. Jiutepec, Mor. México 28-29
- Ortiz, E M. 1989. Métodos de control de garrapatas. Memorias del curso de identificación de garrapatas y diagnóstico de enfermedades hemoparasitarias que transmiten. SARH-IICA. CENAPA. Jiutepec, Mor.
- Solís, S.S. 1986 Ecología de garrapatas en México. Memorias. Seminario Internacional de Parasitología Animal. Cuernavaca, Mor, México 250-263.
- Stone, B.F.; Haydock, K.P. 1962. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.) *Bull. Ent. Res.* 53:563-78.
- Shaw, R. D. 1966. Culture of an organophosphorus resistant strain of *B. microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull. Entomol. Res.* 56:389-405.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 1. Muestras de garrapatas de diferentes géneros que expresan susceptibilidad y mortalidad, mediante las técnicas de paquete e inmersión de larvas.

Municipio	<i>Anocentor nitens</i>								
	IXODICIDAS								
	Clorado	Fenilpyrazolona	Organofosforados			Piretroides			Amidina
	Lindano	Fipronil	Chlor	Coum	Díaz	Flum	Delta	Cype	Amitraz
Cd. del Carmen	100	100	45.7	31.7	74.6	100	100	100	79.8
Matías Romero	100	100	65.5	42.8	79.4	100	100	100	85.8
Minatitlan 1	100	100	89.7	74.1	100	100	100	100	50
Minatitlan 2	100	100	99.2	94.8	100	100	100	100	44.3
<i>B. annulatus</i>									
La Paz	100	100	100	100	100	100	100	100	99.0
Zaragoza	100	100	100	100	100	100	100	100	84.3
Castañas	100	100	100	100	100	100	100	100	15.3
Nueva Rosita	100	100	100	100	100	100	97.2	100	100
San Luis de la Paz	100	100	100	100	100	100	100	100	87.4
<i>Dermacentor albipictus</i>									
Jiménez del Teul	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Tapalpa	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Chlor = Chlorpiriphos, Coum = Coumaphos, Díaz = Diazinon  
 Flum = Flumetrina, Delta = Deltametrina, Cype = Cypermetrina





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 2. Muestras de garrapatas *A. mixtum (cajennense)* que expresan susceptibilidad y mortalidad mediante Dosis Discriminantes con Organoclorado, organofosforados, piretroides y amitraz.

Estado y Municipio	IXODICIDAS								
	Clorado	Organofosforados				Piretroides			Amidina
	Lindano	Chlorfen	Chlorp.	Coum	Díaz	Flume	Delta	Cyper	Amitraz
Tabasco									
E. Zapata	74.88	100	100	100	80.5	75	65.6	84.9	89.01
Huimanguillo	100	100	100	24.22	9.40	100	100	100	67.79
Puebla									
Hueytamalco	100	100	56.36	78.24	0.0	100	100	98.45	91.46
Veracruz									
Altamirano 1	100	100	83.00	35.00	0.0	100	100	100	100
Veracruz	100	100	87.17	100	0.0	100	100	100	99.30
Altamirano 2	100	100	83.48	35.39	0.0	100	100	100	100
Tamaulipas									
S.L.M 1	100	100	87.62	99.58	36.05	100	100	97.03	100
S.L.M 2	100	23.85	6.21	17.87	0.0	100	100	100	95.27
S.L.M 3	100	100	0.0	85.34	0.0	100	82.12	60.45	100
S.L.M 4	100	100	0.0	100	0.0	100	100	95	100
S.L.M 5	100	100	0.0	77.78	0.0	100	100	89.85	100
S.L.M 6	100	100	87.62	99.58	36.05	100	100	97.07	100
S.L.M 7	100	100	6.21	17.78	0.0	100	100	100	95.27
Aldama 1	100	100	58.18	92.76	53.68	100	81.08	83.55	95.08
Aldama 2	100	100	61.51	97.95	80.70	100	100	100	100
Aldama 3	100	100	66.97	99.08	11.63	100	100	100	100
Aldama 4	100	100	100	100	25.53	100	100	100	100
Aldama 5	100	100	93.50	97.48	69.23	100	100	100	100
Aldama 6	100	100	58.18	92.76	53.68	100	81.08	83.55	95.08

Chlorfen = Chlorfenvinphos, Chlorp = Chlorpiriphos, Couma = Coumaphos, Díaz = Diazinon  
Piretroides.- Flume = Flumetrina, Delta = Deltametrina, Cyper = Cypermetrina



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 3. Muestras de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* que expresan susceptibilidad y mortalidad obtenidos en larvas de mediante las técnicas de paquete e inmersión de larvas, en 5 diferentes municipios del estado de Morelos, México.

Municipio	GARRAPATICIDAS								
	Clorado	Fenilpyrazolona	Organofosforados			Piretroides			Amidina
	Lindano	Fipronil	Chlorp	Coum	Díaz	Flume	Delta	Cyper	Amitraz
Temixco	100	100	88.7	75.6	63.9	97.5	88.1	89.0	98.04
	100	100	95.5	75.0	78.5	98.8	96.6	86.1	100
Alpuyeca	100	100	81.9	2.17	95.2	100	83.0	88.0	100
Xochitepec	27.1	100	100	9.55	5.69	100	48.1	60.13	97.11
Jiutepec	100	100	88.0	95.49	98.4	100	98.5	91.2	100
	0	100	42.3	70.1	75.2	90.5	86.7	87.5	82.1
	35.3	100	78.9	99.4	97.9	100	77.9	74.8	56.5
	100	100	13.0	35.1	35.2	100	80.2	55.89	81.97
Oaxtepec	73.72	100	22.9	29.2	20.0	100	67.3	100	75.3
	100	100	10.74	42.22	37.9	100	87.7	82.9	85.1
	94.7	100	8.7	48.9	40.0	100	69.2	47.2	0.39
	100	100	18.4	77.3	52.2	99.4	76.0	38.7	100
	100	100	93.89	100	100	100	100	100	100
	100	100	27.5	85.7	51.3	100	51.6	47.2	100
	100	100	21.0	80.7	72.7	100	80.6	59.4	92.4
100	100	22.5	89.9	65.6	100	65.4	66.4	79.11	

Organofosforados.- Chlorp = Chlorpiriphos, Couma = Coumaphos, Díaz = Diazinon

Piretroides.- Flume = Flumetrina, Delta = Deltametrina, Cyper = Cypermetrina



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## VETERINARY INDUSTRY AND TICK CONTROL IN CATTLE

Dr. Chandra Bhushan

Bayer Animal Health GmbH, Alfred Nobel Strasse 50, Geb.6210, 40789, Monheim Am Rhein, Germany

“We (cattle producers) are, in effect grass farmers. Grass is the beginning, the end and everything in between is natural cattle production”( Alan Nation ,Editor, The stockman Grass Farmer). We should not forget that twenty-six percent of the Planet’s ice-free land is used for livestock grazing and 33 percent of croplands are used for livestock feed production (FAO). In the early 1990s, one-third of Mexican territory was officially designated as grazing land, which were located mainly in the north, and in the southern, central, and southeastern states mainly used for raising cattle. Like in many countries, animal production is an important part of Mexican economy

However, growing animals on grassland /pasture is fraught with dangers of exposure to several diseases, lurking parasites and pests including ticks. Parasites and parasitic diseases in Mexico, impact adversely the animals grown on pasture land / grazing land. The losses due to six major parasite and parasitic diseases in Mexico are estimated to be USD 1.41 billion (Rodriguez-Vivas et al 2017). The losses incurred due to cattle tick alone are USD 573.61 million (Rodriguez-Vivas et al 2017). The losses suffered by the cattle industry are due to direct and indirect effects of the ticks. Heavy and uncontrolled cattle tick infestations can limit the productivity of cattle to such an extent that chemicals / acaricides are needed to control them and use of chemicals rapidly leads to resistance. Traditionally tick control in cattle had been an attractive market for major animal health companies, however recently animal health companies have focused on pet animal acaricides / insecticide development which had been driving the innovation in the market place.

The cattle and veterinary industry face several challenges in tick control currently. The development of tick resistance has created an alarming situation for cattle producers. The resistance has decreased the life span of useful drugs, increased the cost of production and limited the choices for control of ticks. Both, veterinary industry and Government authorities are aware of the situation and are working together to monitor, prevent and control the tick resistance.

- A. Breed of animals used: In tropical countries where the climate is very favourable for tick development , use of European cattle could limit the productivity of animals if ticks are not controlled by acaricides at a regular interval. Zebu cattle tolerate cattle tick burdens better than European breeds and have replaced European cattle in tropical regions. The climate change may further limit the use of European cattle.
- B. Governments have limited or no involvement in tick control: Over the years, Governments have abolished or trimmed down extension services who consulted with producers / farmers on tick control. Large Government sponsored / subsidized tick eradication/ control programs abandoned (e.g., Mexico, Argentina, Kenya etc.) Some exceptions are tick free zones in some countries like Australia. Therefore ,there are few people in the field who consult the producers in sustainable management of ticks on farms.
- C. Information sharing: In the past veterinary industry frequently organized Information meetings for producers which are far and few now. Today, sources of information/



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

technology / new product / practices (if at all) for producers, are sales force of pharmaceutical companies/farm magazines/ sales clerks at drug retailers and wholesalers. Sales clerks push the drugs where the retailers/ wholesalers earn more margins. In turn producers use the same class of chemicals by different brand names which further complicates the matter.

D. Imprudent use of acaricides : Misuse, overuse and abuse of acaricides has led to rampant resistance to acaricides. The resistance to acaricides is widespread in several countries. Some of the tick populations are resistant to all existing chemical classes used to control ticks. The timing and frequency of use / rotation of chemical classes is often ignored by producers and sometimes the acaricides are mixed with other substances like diesel. The other alternative tick control measures like pasture rotation is not or rarely practiced by producers.

E. Geographical differences and preferences of the producers for acaricide application.

There are sharp geographical differences in preferences for product application methods.

- Injectable ( Brazil)
- Pour ons ( Australia, NZ, Mexico),
- Ear tags ( USA, Australia).
- Sprays are preferred by small farmers ( Colombia)
- Dips are becoming less popular

The differences in the preferences make the choices difficult for veterinary industry in choosing delivery systems for new products.

F. Global regulatory environment :

Very stiff regulatory requirements for Food animal products, high cost of product development, long time needed for development (10-12 years) and unwillingness to pay for innovation in tick control by producers will discourage the veterinary industry from developing products.

Environment safety( dips and sprays may be abandoned in future), pesticide handling and user safety are increasingly becoming an issue

While developing the new drug for farm animals, the industry has to work on drug metabolism, pharmacokinetics, residue depletion, efficacy, product safety, consumer safety, target animal safety, environmental safety, formulation development , quality standards and finally the business development to justify the investment. Unfortunately , if products are used, abused, misused by the producers, in absence of proper guidance the tick populations develop resistance rendering the product useless. Integrated Pest Management ( IPM) has been promoted for last several years to minimize the impact of resistance. IPM employs chemical and non- chemical approaches to tick control, however its adoption is still in infancy in most of the counties. In fact, all stakeholders like the veterinary industry, producers, wholesalers, retailers, Governments and other agencies must collaborate to control and manage the resistance development in ticks.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO CAMBIO CLIMÁTICO Y SUSTITUCIÓN DE NICHOS ECOLÓGICO

### INSECTICIDAS DE NUEVA GENERACIÓN: HACIA LA IDENTIFICACIÓN DE NEUROPEPTIDOS DE MOSQUITOS COMO CANDIDATOS A BIO-INSECTICIDAS

Hernández MS<sup>1\*</sup>, Sánchez ZM<sup>1</sup>, Brito K<sup>1</sup>, Herrera OA<sup>1</sup>, Ons S<sup>2</sup>, Noriega FG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Laboratorio de Neurobiología de Insectos. Centro Regional de Estudios Genómicos. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. <sup>3</sup>Department of Biological Sciences and Biomolecular Science Institute, Florida International University. Miami, FL, USA.  
\*shernandez@insp.mx

La comunidad agrícola y ganadera y médica reconocen desde hace tiempo el impacto negativo del cambio climático, el cual se encuentra directamente asociado a un aumento de la temperatura. El incremento de la temperatura incrementa la actividad de los insectos que pueden ser nocivos para la agricultura, ganadería y salud humana. El aumento de insectos de importancia agrícola conlleva a la pérdida de arroz, maíz y trigo hasta un 25 % por cada grado centígrado de aumento en la temperatura (Kwon et al., 2012). El incremento en la temperatura aumenta exponencialmente la tasa metabólica y reproductiva de los insectos, en otras palabras, más insectos y más hambrientos. Lo anterior indica que los problemas de inseguridad alimentaria y daños ambientales de la agricultura podrán verse agravados en próximos años (Deutsch et al., 2018).

Aunado a otros factores, el cambio climático contribuye de manera muy importante en la propagación de insectos nocivos, tales como plagas en la agricultura o vectores de enfermedades de animales y humanos. El aumento de las concentraciones de gases de efecto invernadero en la atmósfera genera un aumento en las temperaturas del aire y del océano, siendo la causa del calentamiento global; el sector agrícola es uno de los más impactados por este fenómeno, debido a la generación de condiciones propicias para el desarrollo de plagas y enfermedades.

La mayor parte de las especies de insectos están asociadas a intervalos térmicos, de humedad y de radiación, relacionados con su fisiología y ciclos circadianos. Por tal motivo, el aumento de la temperatura y la variación en la distribución de las precipitaciones asociadas al cambio climático, los insectos verán modificada su hábitat, aumentando o disminuyendo su distribución (Vásquez, 2011).

En la actualidad, la globalización ha hecho que el transporte de mercancías, el movimiento humano y los desplazamientos (migraciones o guerras), favorecen el traslado pasivo de los insectos y el cambio climático contribuye al aumento de su reproducción, instalación y propagación como plaga. De tal suerte que especies consideradas raras en algunas regiones pueden volverse comunes y abundantes. Por ejemplo, en el Mediterráneo europeo se han reportado aumentos en las poblaciones de *Periplaneta americana*, la chinche de cama (*Cimex Lectulariux*) y el mosquito vector del dengue (*Aedes albopictus*); especies que no habían sido detectadas con anterioridad o reportadas con baja incidencia. Estos cambios no solo afectan a los insectos, también a los patógenos que pueden transmitir. Por ejemplo, se ha observado que la temperatura también afecta el período de incubación



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

extrínseco del virus dengue dentro del mosquito vector, acortándose a una semana si el mosquito se encuentra a 32°C. Es decir, el mosquito se vuelve infectivo más rápidamente y las posibilidades de que infecte a una persona al ser picada se incrementan drásticamente. Aunado a esto, los cambios en el clima (al modificar los ciclos de precipitaciones) influyen directamente la abundancia del mosquito.

Para combatir el problema de los insectos no hay una solución única. Las estrategias dependerán de las poblaciones, condiciones climáticas, geográficas, estacionales y en general circunstancias específicas de las especies a combatir. Los insecticidas tradicionales han dado buen resultado como respuesta puntual y a corto plazo, sin embargo, su inespecificidad, efectos nocivos en el ambiente y costos han sido causa de muchos debates sobre su uso. Entre otras, actualmente se ha considerado el uso de estrategias génicas de manipulación, que podrían permitir el control de poblaciones blanco de insectos.

La malaria y dengue son enfermedades infecciosas de gran importancia en la salud pública mundial, las cuales son transmitidas al humano por mosquitos hematófagos. Estas enfermedades se ven incrementadas en la población durante y al final de los periodos de lluvias, pero de manera particular durante fenómenos climáticos de huracanes o ciclos como "El Niño". La malaria es causada por un protozoo del género *Plasmodium* y transmitida por mosquitos de género *Anopheles*. El dengue es causado por un virus de la familia arboviridae y transmitido por mosquitos del género *Aedes*. No obstante, el impacto económico y de salud en la población a nivel mundial, es poca la atención que se ha dado a la investigación encaminada a clarificar la compleja interacción entre estos agentes infecciosos y sus mosquitos vectores (los cuales son indispensable por el protozoo y el virus para su desarrollo, mantenimiento y subsiguiente transmisión a humanos). El control primario de estas enfermedades se ha basado en el uso de insecticidas, sin embargo, los daños ambientales y la resistencia desarrollada por los insectos a los más eficientes insecticidas químicos, ha reducido significativamente la efectividad de estos esfuerzos de control tradicional. La utilización de compuestos biológicos (por tanto, biodegradables) del mismo insecto con efectos específicos y efectivos que permitan un control de las poblaciones de insectos, podría ser una alternativa muy atractiva comparada con los insecticidas tradicionales.

Los neuropéptidos regulan procesos metabólicos, homeostáticos, de comportamiento y desarrollo y reproductivos fundamentales durante el ciclo de vida en insectos; pueden actuar como neurotransmisores, neuromoduladores y hormonas clásicas (Predel y Eckert, 2000, Nassel, 2002). Los neuropéptidos se encuentran en el sistema nervioso en todos los niveles de organización de hidrozoo al hombre y son las sustancias de señalización mucho más diversas, tanto estructural como funcionalmente. En *Drosophila* existe evidencia de al menos 30 genes que codifican neuropéptidos precursores, incluyendo 7 que codifican para péptidos similares a la insulina (Vanden, 2001; Hewes y Taghert, 2001) y se han identificado unos 40 para sus probables receptores (receptores acoplados a proteína-G; GPRCs) (Brody y Cravchik, 2000; Hewes y Taghert, 2001; Vanden, 2001). Es evidente que la señalización neuropéptidica es compleja, incluso en invertebrados. Esta complejidad, comienza con una multiplicidad de neuropéptidos y de sus receptores correspondientes, y puede incrementarse aún más por la variedad de sistemas de transducción de señales y señales efectoras acopladas a los receptores (Bargmann, 1998; Bargmann y Kaplan, 1998; Darlison y Richter, 1999; Li et al., 1999). Por tanto, el análisis de las funciones de los neuropéptidos en el sistema nervioso central y el papel que juegan en el



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

comportamiento es una tarea titánica. Por si fuera poco, muchos neuropéptidos actúan como péptidos hormonales o ejercen efecto en blancos periféricos por medio de la inervación directa.

La estructura y función de un gran número de neuropéptidos ha sido dilucidada en diferentes especies. Muchos de ellos parecen estar ancestralmente relacionados con péptidos de otros Phyla, incluyendo cordados, mientras que otros son específicos de insectos o artrópodos. Pueden mencionarse, por ejemplo, neuropéptidos involucrados en la regulación de la síntesis de hormona juvenil (Allatostatina, Allatotropina), regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos (Hormona Adipoquinética), regulación de la actividad cardíaca (Corazonina), Diuresis (Hormona Diurética Calcitonina, Taquikinina), comportamiento de ecdisis/eclosión (Hormona de la Eclosión), alimentación (*FMRFamide-related peptides*), señalización neuronal (relacionados con Insulina, SIF-amida), transporte de iones a través del intestino (Péptido de Transporte de Iones), regulación de la alimentación y digestión (neuropéptido F), biosíntesis de feromonas sexuales (PBAN), miotropismo (Proctolina, Kinina), etc. (Nässel, 2002).

Tanto en insectos como en vertebrados, los neuropéptidos se expresan como pre-proteínas sometidas a procesamientos post-traduccionales tales como clivajes, amidaciones, oxidaciones, etc. Por ese motivo, la información de secuencia nucleotídica del gen resulta insuficiente, debiendo ser complementada con la caracterización de los productos maduros, biológicamente activos. Gracias a la información genómica y a herramientas que en su conjunto se denominan “proteómicas”, hoy es posible identificar y obtener información de secuencia de manera simultánea para un gran número de proteínas y péptidos expresados en un sistema determinado (Steen y Mann, 2004). La introducción de técnicas proteómicas produjo una verdadera revolución en el campo de la endocrinología de insectos a partir de su primera implementación para la identificación de neuropéptidos en *D. melanogaster* (Baggerman et al., 2005; Boonen et al. 2008). Actualmente se han completado estudios peptidómicos en algunas especies con secuencias genómicas conocidas como *D. melanogaster* (Baggerman et al., 2005), *Apis mellifera* (Hummon et al. 2006), *Tribolium castaneum* (Li et al., 2008) y *Bombix mori* (Roller et al. 2008), así como en algunas otras especies con genomas no conocidos (Verleyen et al. 2004, Predel et al. 2008, Weaver y Audsley, 2008). No obstante, hasta los trabajos recientes en *R. prolixus* (Ons et al. 2009; 2011; Sterkel et al. 2012) no había sido realizada una búsqueda sistemática de péptidos regulatorios en ningún insecto vector de enfermedades.

Los péptidos allatorreguladores fueron identificados y clasificados originalmente por su efecto en la glándula endocrina productora de hormona juvenil (JH) denominada corpora allata (CA). Las hormonas juveniles son sesquiterpenoides y biosintetizados *de novo* en el CA (Kataoka et al., 1989a). La biosíntesis de JH es regulada positivamente (allatotropina) o negativamente (allatostatina) y sus niveles deben ser modulados para permitir el progreso normal del desarrollo y la reproducción de los insectos. Los niveles de JH deben ser modulados para permitir el progreso normal del desarrollo y la reproducción en insectos, incluso hemos observado que el apareamiento influencia de manera dramática los niveles de esta hormona (Li, et al., 2003). Estudios realizados por nuestro grupo en hembras adultas *Ae. aegypti* han revelado que los niveles JH aumentan durante los primeros dos días después de la emergencia a adultos y se mantienen elevados hasta la alimentación sanguínea (Li et al., 2006). Después de que la hembra se alimenta de sangre, el nivel de JH cae rápidamente durante las primeras tres horas y alcanza su punto más bajo 24 h después. Cuarenta y ocho horas después de la alimentación de sangre, el nivel de JH comienza a



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

elevarse y después de 96 horas es equivalente a los valores previos a la toma de sangre (Li et al., 2006). Los niveles de JH son el resultado de un equilibrio entre su síntesis y degradación, pero el título de JH en mosquito adulto está determinado en gran medida por la tasa a la cual el CA sintetiza JH (Shapiro et al., 1986).

**Allatotropinas.** Las allatotropinas (AT) fueron identificadas por primera vez en el gusano del tabaco *Manduca sexta* (MasAT) como factor estimulante de la biosíntesis de JH en el CA (Kataoka et al., 1989a, b). Hasta la fecha sólo una familia de allatotropinas ha sido químicamente identificada. Los miembros más estudiados de esta familia son la allatotropina de *Manduca sexta* (Mas-AT) (Kataoka et al., 1989a) y la allatotropina de *Aedes aegypti* (Aea-AT) (Veenstra y Costes, 1999), esta última también identificada por nuestro grupo y con la que demostramos su efecto de dosis respuesta en la actividad de la CA en *Ae. aegypti* (Li et al., 2003, 2004; Navarre et al., 2009). Después de las descripciones originales publicadas por Kataoka et al. (1989a) y Kramer et al. (1991), nuestros reportes fueron los primeros confirmando la actividad moduladora en el CA de homólogos de Mas-AT y AS-C fuera de los lepidópteros (Li et al., 2003, Mayoral et al., 2009). En *M. sexta* se demostró que la Mas-AT también induce un aumento en la frecuencia de ritmo cardíaco (Veenstra et al., 1994). Por otro lado, se sabe que la MasAT no presenta ningún efecto en la síntesis de JH en el escarabajo *Tenebrio molitor*, el saltamontes *Schistocerca nitens* o en la cucaracha *P. americana* (Kataoka et al., 1989a, b). De tal modo, adicional a la especificidad entre especies (debido principalmente a las diferencias en secuencia entre especies alejadas, Fig. 1) y la estimulación de la síntesis de JH, se ha observado que la AT presenta actividades biológicas adicionales en los insectos, tales como control en el sistema reproductivo, péptido cardio-activo, regulador de contracciones en intestino posterior, neurohormona circulante y co-transmisor de señales (Veenstra, 1994; Rudwall et al., 2000; koladich et al. 2002; Hernández-Martínez et al., 2007).

<b>APFRNSEMMTARGF</b>	<b><i>Aedes aegypti</i></b>
<b>APFRNSEMMTARGF</b>	<b><i>Anopheles gambiae</i></b>
<b>GFLNVEMMTARGF</b>	<b><i>Manduca sexta</i></b>

Fig. 1. Secuencia de aminoácidos de la allatotropina en 3 especies de insectos. Para el caso de mosquitos presentan una secuencia idéntica.

Los trabajos de Veenstra y cols. (1994), al igual que los nuestros (Hernández-Martínez et al., 2005), muestran que neuronas productoras de AT en los ganglios ventrales presentan grandes proyecciones axonales que inervan distintos tejidos abdominales, y de manera interesante muchas de estas inervaciones terminan en el corazón ubicado en el vaso dorsal (Fig. 3). Lo anterior sugiere que estas neuronas podrían estar liberando AT como sustancia cardioaceleradora o bien como sitio estratégico para ser distribuida rápidamente por el corazón a los distintos tejidos.

**Allatostatinas.** Las allatostatinas (AST) son péptidos estructuralmente diferentes que fueron originalmente descritas por su papel inhibitorio la biosíntesis de la hormona juvenil (JH) en distintas especies de insectos (Woodhead et al., 1989; Kramer et al., 1991; Lorenz et al., 1995; Bellés et al., 1999). Debido a sus distintas estructuras y bioactividades se han clasificado en tres familias de estructuralmente relacionadas (Fig. 2). Estas familias se han nombrado en el orden que han sido identificadas: AST-A (de cucaracha o tipo YXFGL-amida), AST-B (de grillo o tipo W<sup>2</sup>W<sup>9</sup>-amida) y AST-C (de *M. sexta* o tipo PISCF-OH). En *Drosophila* se han identificado tres genes que codifican para péptidos AST-A, -B y -C, respectivamente (Williamson et al., 2001a, b). Esto sugiere que los





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

tres tipos de AST tienen probabilidades de estar presentes en cada especie de insecto. Lo interesante es que sólo un tipo de AST inhibe la biosíntesis de la JH (es allatostática) en cada especie y que este tipo varía entre los insectos (Lorenz et al., 1995; Weaver et al., 1998; Edwards et al., 2001). Por lo tanto, péptidos de AST-A que afectan la biosíntesis de la JH en cucaracha, no la afectan en otros insectos (Duve et al., 1993; Weaver et al., 1998; Bellés et al., 1999; Tobe et al., 2000), y la AST-C que es allatostática en *M. sexta* (Kramer et al., 1991) no lo es en otros lepidópteros. En *Ae. aegypti* hemos identificado a miembros de dos de estas familias, AS-A y AS-C y demostramos que sólo la AS-C inhibe la síntesis de JH (Li et al. 2004, 2006).

<b>Type A</b> or FGLamide family : <i>Aedes</i>	SPKYN <b>FGL</b>
Cricket	QHQYS <b>FGL</b>
<b>Type B</b> or W <sup>2</sup> W <sup>9</sup> amide family : Cricket	GWQDLNGGW
	AWERFHGSW
<b>Type C</b> or PISCF-OH family: <i>Manduca</i>	EV <b>RFRQCYFNPISCF</b>
<i>Anopheles</i>	QIRY <b>RQCYFNPISCF</b>

Fig. 2. Secuencia de aminoácidos de allatostatinas identificadas en algunos insectos.

La AST-A y -B tipo de péptidos parecen tener efectos mioinhibitorios en músculo visceral de ciertos insectos (Lange et al., 1995; Veelaert et al., 1996; Duve et al., 1999) y otros artrópodos (Szabo et al., 2011). Por otra parte, las AST también han sido asociadas a efectos inhibitorios del ritmo cardíaco, inhibición de liberación de vitelogenina, inhibición de la producción de ecdisona por glándulas protorácicas y ovarios y estimulación de la actividad de carbohidrasas (Price et al., 2002; Gäde, 2002). Asimismo, debido a su distribución en interneuronas evidenciada por ensayos de inmunocitoquímica o hibridación *in situ*, las tres familias de AST también podrían actuar como neuromoduladores en el CNS (Williamson et al., 2001a, b; Price et al., 2002, Hernández-Martínez et al., 2005).

El primer péptido identificado del tipo AST-C fue aislado de *M. sexta* (Mas-AST) (Kramer et al., 1991). En esta especie y algunas otras polillas, la AST-C inhibe la biosíntesis de la JH (Kramer et al., 1991; McNeil y Tobe, 2001). Por nuestra parte, utilizando la AST-C de *An. gambiae* y factores provenientes del cerebro de *Ae. aegypti*, observamos un fuerte efecto inhibitorio de la síntesis de JH en *Ae. aegypti*, lo cual no fue producido por la AST-A (Li et al., 2004), lo cual nos sugirió la presencia de péptidos allatostáticos en el cerebro de este mosquito. La inmunolocalización y descripción de la distribución de péptidos allatortropicos ha sido realizada en distintas especies de insectos (Stay et al., 1992; Zitnan et al, 1993, 1995; Rudwall et al., 2000; Szabo et al., 2011). En larvas de *D. melanogaster*, células neurosecretoras protocerebrales envían axones AST-C-inmunoreactivos a la parte neurohemal de la glándula del anillo (compuesto por la glándula prototorácica, corpora allata y cardíaca), lo sugiere que la AST-C puede actuar como una neurohormona en *Drosophila*. Una función hormonal de la AST-C en *Drosophila* podría ser la de péptido cardio-inhibitorio (Price et al., 2002). En nuestro grupo hemos realizado estudios de inmunolocalización para AT y dos tipos de AST, utilizando microscopia confocal en dos especies de mosquitos (*Ae. aegypti* y *An. albimanos*). De manera interesante reportamos que ambas especies presentan el mismo patrón de distribución de los tres péptidos analizados, presentándose inmunoreactividad en células específicas de los lóbulos protocerebrales y de los ganglios nerviosos ventrales, con proyecciones neuronales intervando distintos tejidos abdominales y del tórax (Fig. 3) (Hernández-Martínez et al., 2005).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

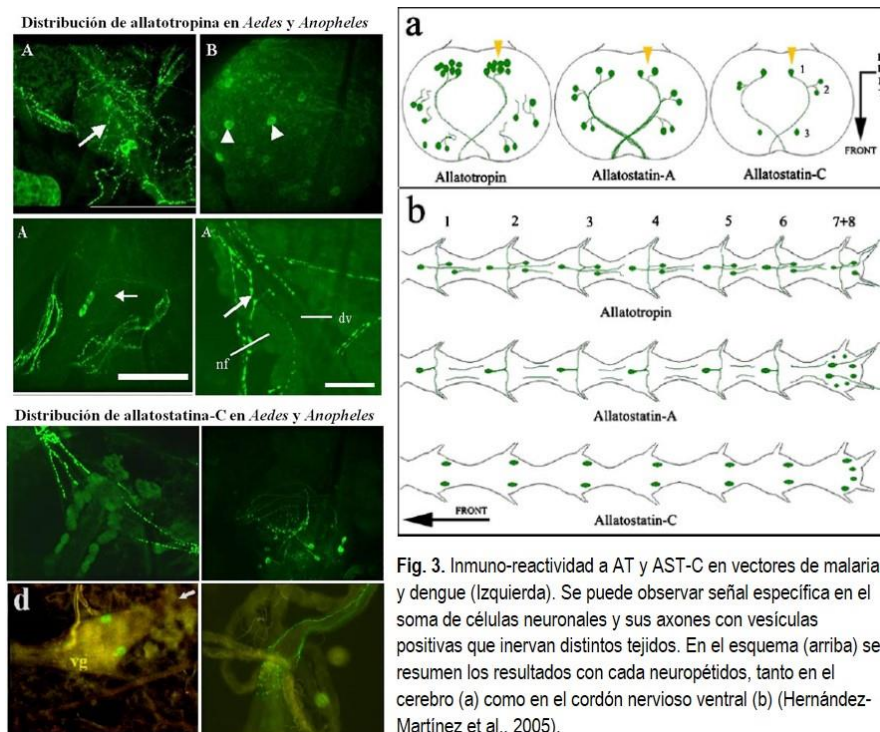


Fig. 3. Inmuno-reactividad a AT y AST-C en vectores de malaria y dengue (Izquierda). Se puede observar señal específica en el soma de células neuronales y sus axones con vesículas positivas que inervan distintos tejidos. En el esquema (arriba) se resumen los resultados con cada neuropéptido, tanto en el cerebro (a) como en el cordón nervioso ventral (b) (Hernández-Martínez et al., 2005).

Los estudios anteriores nos llevaron a realizar una caracterización bioquímica, molecular y funcional más detallada del factor con actividad allatostática encontrado en *Ae. aegypti* (Li et al., 2004; Hernández-Martínez et al., 2005). Después de aislar una fracción con actividad allatostática (por HPLC y ELISA), el análisis de MALDI-TOF/TOF mostró una molécula de 1919.0 Da con la secuencia QIRYRQCYFNPISCF, lo cual fue confirmado mediante amplificación por PCR del cDNA de la AST-C de *Ae. aegypti*. De manera interesante, observamos que la secuencia de éste péptido es exclusiva para dípteros nematócera, predicha y corroborada experimentalmente (Fig.4; Li et al., 2006).

El péptido sintético con esta secuencia fue evaluado en el ensayo radioquímico utilizado previamente (Li et al., 2004), demostrando su actividad biológica al inhibir la biosíntesis de JH (Li et al., 2006).

<i>Manduca</i>	QV <b>R</b> FRQCYFNPISCF
<i>Drosophila</i>	QV <b>R</b> YRQCYFNPISCF
<i>Pseudaletia</i>	QV <b>R</b> FRQCYFNPISCF
<b>Anopheles</b>	Q <b>I</b> RYRQCYFNPISCF
<b>Aedes</b>	Q <b>I</b> RYRQCYFNPISCF

Fig. 4. Secuencia de aminoácidos de AST-C identificadas en algunos insectos. El análisis bioinformático agrupa filogenéticamente relacionadas a las de mosquitos nematóceros (Li et al., 2006).

Así, todo lo anterior sugiere que los péptidos allatotropicos pueden presentar múltiples funciones regulatorias (que podrían interferir con la respuesta inmune, la reproducción y sobrevivencia) en ambas especies de mosquitos, principalmente porque estudios recientes que realizamos para identificar y caracterizar el receptor para AST-C de *Ae. aegypti*, muestran su distribución en distintos tejidos del mosquito, lo que apoya fuertemente esta idea (Mayoral et al., 2010).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

*Respuesta inmune.* Los insectos carecen de una respuesta inmune adaptativa basada en la generación somática y selección clonal de células inmunes específicas, de tal forma que la generación de un repertorio grande de reconocimiento de antígenos y la memoria inmunológica de larga duración también se encuentran ausentes (Du Pasquier and Flajnik, 1999). En su lugar, presentan mecanismos característicos de la respuesta inmune innata, donde componentes celulares y humorales contribuyen de manera muy importante en la resistencia a infecciones microbianas. En términos generales, la eliminación de patógenos por el mosquito se logra mediante tres mecanismos principales: melanización mediada por células, fagocitosis y lisis con la participación de distintos tipos celulares y tejidos. Cada uno de estos mecanismos es iniciado por receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRRs) de patógenos; los factores que lo conducen a la muerte, pueden ser subdivididos en componentes celulares y humorales. La respuesta celular incluye fagocitosis formación de nódulos y encapsulación mediada por hemocitos. La respuesta humoral incluye PRRs, péptidos inducibles antimicrobianos, el sistema de la profenoloxidasa (melanización y cicatrización de heridas) y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Independientemente de esta organización conceptual, la línea entre la inmunidad celular y humoral es borrosa porque los componentes humorales son producidos por hemocitos y otros tejidos que participan en la respuesta inmune celular (Hillyer, 2010, Hernández-Martínez et al., 2002; 2006; 2013a; 2013b). Una de las preguntas más interesantes en la inmunidad de insectos está relacionada con sus mecanismos de modulación y el cómo algunos patógenos logran pasar desapercibidos. Por ejemplo, se ha observado que algunos parásitos son capaces de evadir e incluso inhibir la respuesta inmune del hospedero, pero los mecanismos son desconocidos.

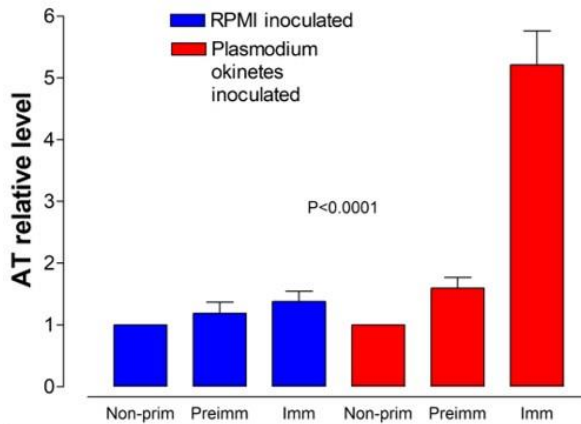
Existen evidencias donde se muestran que la respuesta inmune en insectos pudiera estar influenciada por hormonas esteroides como la ecdisona (Figueiredo et al., 2006; Malva et al., 2004; Sorrentino et al., 2002) e isoprenoides como la hormona juvenil (HJ) (Khafagi and Hegazi, 2001). En *Spodoptera littoralis* (larva de la hoja del algodón) se observó que la JH de alguna manera modula el proceso de encapsulación contra parasitoides (Khafagi and Hegazi, 2001) y en *T. molitor* disminuye la actividad de PO y el encapsulamiento (Rantala et al., 2003). Por otra parte, la ecdisona invierte la inmunosupresión producida por desnutrición en *Rhodnius prolixus*, aumentando la actividad antibacteriana y la respuesta celular, pero la actividad de PO no se ve afectada (Figueiredo et al., 2006). No obstante, a la fecha se desconoce si estas observaciones son resultado de un efecto directo de estas hormonas o son consecuencia de otros procesos de modulación. Lo anterior plantea la siguiente pregunta: *¿Existe alguna conexión directa entre el sistema neuroendocrino y el inmune de mosquitos?*

**El objetivo general** de la presente investigación es Determinar el efecto de neuropéptidos allatorreguladores en la respuesta inmune, sobrevivencia y reproducción del mosquito *Aedes aegypti*.

**Resultados.** Estudios preliminares de nuestro laboratorio han mostrado la posibilidad de que los péptidos allatorreguladores estén participando de manera directa en la modulación de la respuesta inmune de *An. albimanus* y *Ae. aegypti*. Ensayos realizados en *An. albimanus* inoculados vía enema con *Plasmodium berghei*, mostraron un marcado incremento en los niveles de AT comparado con los controles inoculados solo con el vehículo (Fig 5), *¿cuál es el significado del aumento de AT ante la presencia de este parásito en el intestino del mosquito?*



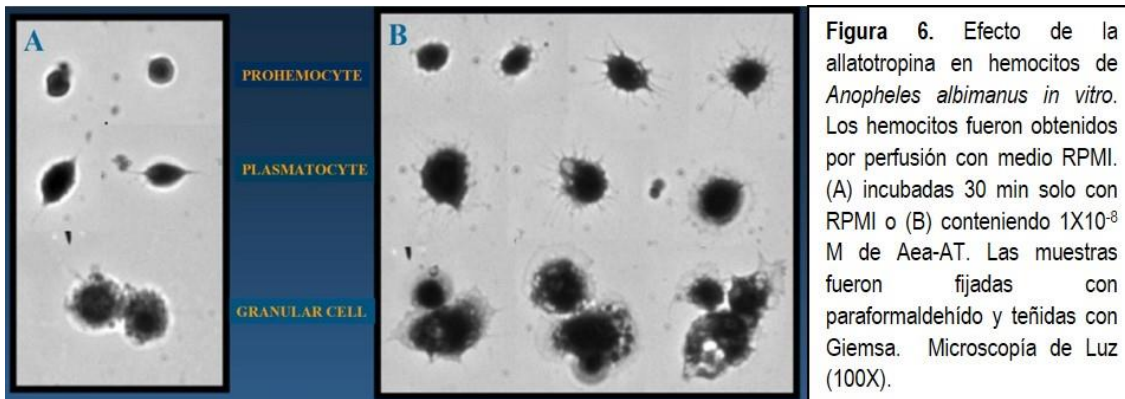
## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



**Fig. 5.** Cambios en los niveles de AT en *An. albimanus* inoculados por enema con RPMI u occinetes de *P. berghei*. Muestras de péptidos (cabeza y abdomen sin intestino) eluidos en sep-pak C-18 (10 mosquitos por grupo), liofilizadas y resuspendias en 80% acetonitrilo, fueron evaluadas para Aea-AT por ELISA indirecto.

Ensayos posteriores, utilizando el péptido sintético de la Aea-AT para evaluar su efecto sobre hemocitos de *An. albimanus* en cultivos primarios, nos indicaron un fuerte efecto en estas células. Logramos observar que a concentraciones fisiológicas (femtomolares) la Aea-AT induce la adherencia y transformación *in vitro* (generación de pseudópodos y filopodios; Fig. 6) de las 3 poblaciones de hemocitos que describimos previamente (Hernández et al., 1999). Esta observación es de suma importancia, ya que muestra un efecto directo de un neuropéptido sobre células del sistema inmune de *An. albimanus*, pero lo que debe explorarse más a fondo, sobre todo en otras especies de mosquitos o dípteros. Entonces, ¿El aumento de Aea-AT observado en presencia de *Plasmodium* podría tener una relación con la activación de hemocitos?, ¿La Aea-AT se une a los hemocitos o solo estamos observando un efecto osmótico?

Asimismo, hemos comenzado a utilizar un sistema basado en la elaboración de híbridos bioconjugados de compuestos biológicos e inorgánicos, lo que comprende la utilización de nanocristales (quantum dots) (Jaiswal y Simon, 2004). A la fecha, ya hemos logrado conjugar la Aea-AT y la AST-C a nanocristales Preliminarmente, en ensayos inoculando los conjugados al hemocele de *Ae. aegypti*, solo la AS-C ha presentado un reconocimiento intenso de los hemocitos (Fig. 7). Sin embargo, al momento desconocemos si este reconocimiento y posible efecto está ocurriendo a nivel de receptores de membrana celular o el péptido está siendo introducido al interior (para ejercer su efecto), para lo cual será necesario realizar estudios de microscopía confocal, así como reproducir estos ensayos *in vitro* y bajo distintos estados fisiológicos del mosquito (estadios y edades, alimentados con sangre, con reto inmune, etc.) para analizar los cambios.



**Figura 6.** Efecto de la allatotropina en hemocitos de *Anopheles albimanus in vitro*. Los hemocitos fueron obtenidos por perfusión con medio RPMI. (A) incubadas 30 min solo con RPMI o (B) conteniendo  $1 \times 10^{-8}$  M de Aea-AT. Las muestras fueron fijadas con paraformaldehído y teñidas con Giemsa. Microscopía de Luz (100X).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

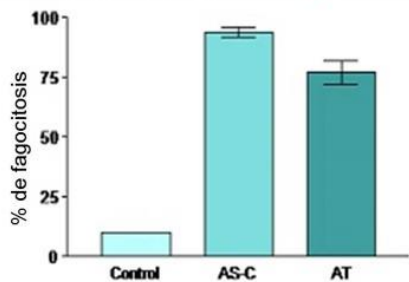
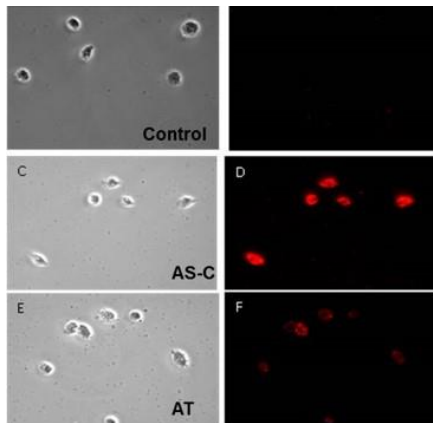


Figura 8. Efecto de los péptidos allatoreguladores en la actividad fagocítica de los hemocitos de *An. albimanus*.

Adicionalmente, hemos observado que los péptidos allatotropicos, en concentraciones fisiológicas, inducen actividad fagocítica en la línea celular LSB-AA695BB de *An. albimanus* y en cultivos primarios de hemocitos de del mismo mosquito. Para estos ensayos hemos utilizado bacterias *E. coli* pH-Rhodo comerciales, dichas bacterias presentan la propiedad de emitir fluorescencia al ser excitadas con UV, pero únicamente al encontrarse en el interior del fagolisosoma. Estos resultados son de suma importancia, pero será indispensable realizar los análisis detallados utilizando distintos microorganismos (Gram-, Gram+, hongos, parásitos y virus) para determinar el grado de eficiencia. Por otro lado, también será indispensable realizar ensayos *in vivo* para analizar y cuantificar este fenómeno, así como realizar cinéticas que permitan determinar la sensibilidad del sistema.

Finalmente, contamos con evidencia de que los péptidos allatotropicos también podrían estar modulando la respuesta en otros tejidos. Cultivos primarios de intestinos completos de *An. albimanus*, a los cuales les hemos adicionados AT o AST-C para analizar la expresión de péptidos antimicrobianos mediante PCR en tiempo real, mostraron una fuerte inducción de la expresión de los mensajeros para

attacina, cecropina y gambicina. Lo anterior sugiere que los péptidos allatotropicos estan afectando las principales vías de señalización inmune (Toll, Imd, JAK/STAT) responsables del control de la síntesis de péptidos antimicrobianos. Como se puede observar en la figura 9, el control positivo de LPS (lipopolisacárido de *E. coli*), solo induce la sobre expresión de attacina y gambicina, lo cual tiene que ver con las vías de señalización que son activadas con este PAMP. La importancia de este hallazgo debe ser analizada con mucho más detalle, ya que al parecer la AT y la AST-C están induciendo la activación de más vías de señalización, lo cual aparentemente es más marcado con AT. Estos estudios deberán ser corroborados en otros tejidos inmunes (p.e. hemocitos o cuerpo graso), así como determinar el sitio de interacción de la AT y AST en las células del intestino y los tipos celulares que están respondiendo ya podrían ser del intestino medio, anterior o posterior, puesto que en todas estas regiones existen evidencias de su participación en la respuesta inmune.

Actualmente nos encontramos evaluando el efecto y estabilidad de diferentes péptidos miméticos de allatotropina y allatostatina (por sustitución de enlaces peptídicos normales  $-\text{CO-NH}$ , por no naturales  $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), en el desarrollo, reproducción, sobrevivencia y respuesta inmune de los mosquitos.

Agradecimientos. El presente trabajo fue financiado por el proyecto CONACyT CB-258239



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Adeleke et al. (2012). *African Entomol.* 20: 390-394.
- Baggerman et al. (2005). *J Mass Spectrom.* 40: 250-260.
- Bargmann CI. (1998). *Science* 282: 2028-2033.
- Bargmann CI, Kaplan JM. (1998). *Annu. Rev. Neurosci.* 21: 279-308.
- Khafagi WE, Hegazi EM. (2001). *J Insect Physiol.* 47: 1249-1259.
- Bellés et al. (1999). *Peptides* 20: 11-22.
- Boonen et al. (2008). *J Sep Sci.* 31: 427-445.
- Brody T, Cravchik A. (2000). *J. Cell Biol.* 150: F83-F88.
- Darlison MG, Richter D. (1999). *Trends Neurosci.* 22: 81-88.
- Deutsch et al. (2018). *Science* 361(6405): 916-919. DOI: 10.1126/science.aat3466
- Duve H, East PD, Thorpe A. (1999). *J. Comp. Neurol.* 413: 405-416.
- Duve et al. (1993). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 2456-2460.
- Edwards et al. (2001). *Peptides* 22: 255-261.
- Figueiredo et al. (2006). *J Insect Physiol.* 52:711-6.
- Gäde G. (2002). *Inverteb Rep.* 41: 127-135.
- Hernández et al. (1999). *J Med Entomol* 36:426-434.
- Hernández-Martínez et al. (2013a). *Arch Insect Biochem Physiol.* 84(1): 1-14.
- Hernández-Martínez et al. (2013b). *Cell Tiss Res.* 351(1): 127-137.
- Hernández-Martínez et al (2002). *J Med Entomol* 39:61-69.
- Hernández-Martínez et al. (2005). *Cell Tiss Res* 321: 105-113.
- Hernández-Martínez et al. (2007). *J Insect Physiol.* 53: 230-234.
- Hernández-Martínez et al. (2006). *Arch Insect Biochem Physiol.* 63: 147-158.
- Hewes RS, Taghert PH. (2001). *Genome Res.* 11: 1126-1142.
- Hillyer JF. (2010). *Invertebrate immunity.* Landes Bioscience and Springer SBM. p. 218-238.
- Hummon et al. (2006). *Science.* 314: 647-649.
- Jaiswal JK, Simon SM. (2004). *Trends Cell boil.* 14: 497-504.
- Kataoka et al. (1989a). *Science.* 243: 1481-1483.
- Kataoka et al. (1989b.) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 2976-2980.
- Khafagi WE, Hegazi EM. (2001). *J Insect Physiol.* 47: 1249-1259.
- Koladich et al. (2002). *Peptides* 23: 645-651.
- Kramer et al. (1991). *Proc Natl Aca Sci USA.* 88: 9458-9462.
- Kwon et al. (2012). *J Asia-Pacific Entomol* 15: 507-515.
- Lange et al. (1995). *J Insect Physiol.* 41: 581-588.
- Lanz-Mendoza et al. (2002). *J Parasitol.* 88(4): 702-706.
- Lenz et al. (2000c). *Biochem Biophys Res Commun.* 273: 1126-1131.
- Li et al. (1999). *Ann NY Acad Sci.* 897: 239-252.
- Li et al. (2006). *J. Biological Chemistry* 281: 34048-34055.
- Li et al. (2004). *Regulatory Peptides* 118: 175-182
- Li et al. (2003). *Insect Biochem. Molec. Biol.* 33: 1307-1315.
- Lorenz et al. (1995). *J Biol Chem.* 270: 21103-21108.
- Malva et al. (2004). *Insect Biochem Mol Biol.* 34(2):177-183.
- Marcombe et al. (2012). *PLoS One.* 7, e30989.
- Mayoral et al. (2009). *Insect Biochemistry Molecular Biology.* 39: 31-37.
- Mayoral et al. (2010). *Peptides* 31: 442-450.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- McNeil JN, Tobe SS. (2001). *Peptides* 22: 271-277.
- Nachman et al. (1993). *Arch Insect Biochem Physiol.* 22: 181-197.
- Nachman et al. (2009). *Ann N Y Acad Sci* 1163: 251-261.
- Nässel DR. (2002). *Progress Neurobiol.* 68: 1-84.
- Navare et al. (2009). *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 23: 477-486.
- Ons et al. (2009). *Proteomics* 9: 788-792.
- Pedrini et al. (2009). *Plos Neg. Trop Disease.* 3 e434.
- Predel R, Eckert M. (2000). *Naturwissenschaften.* 87: 343-350.
- Predel et al. (2008). *Peptides.* 29: 162-167.
- Price et al. (2002). *Peptides* 23: 787-794.
- Ramos-Castañeda et al. (2008). *Intervirology* 51: 335-341.
- Rantala et al. (2003). *Proc Roy Soc London B.* 270: 2257-2261.
- Roller et al. (2008). *Insect Biochem Mol Biol* 38: 1147-1157.
- Rudwall et al. (2000). *J Comp Neurol* 428:159-173.
- Sánchez-Zavaleta, M. (2010). Tesis. Instituto Nacional de Salud Pública. México.
- Shapiro et al. (1986). *J Insect Physiol.* 32: 867-877.
- Stay et al. (1992). *Cell Tissue Res* 270:15-23.
- Steen H, Mann M. (2004). *Nat Rev Mol Cell Biol.* 5: 699-711.
- Sterkel et al. (2012). *Insect Biochem and Mol Biol.* 42: 466-473.
- Sorrentino et al. (2002). *Dev Biol.* 243:65-80.
- Szabo et al. (2011). *J Comp Neurol.* 519: 2658-2676.
- Taneja-Bageshwar et al. (2009). *Gen Comp Endocrinol* 162: 122-128.
- Tobe et al. (2000). *J Insect Physiol.* 46: 231-242.
- Vanden BJ. (2001). *Peptides* 22: 241-254.
- Vásquez L. (2011). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). La Habana. 242p
- Veelaert et al. (1996). *Mol Cell Endocrinol.* 122: 183-190.
- Veenstra et al. (1994). *J Exp Biol.* 188: 347-354.
- Veenstra JA, Costes L. (1999). *Peptides.* 20: 1145-1151.
- Verleyen et al. (2004). *Biochem Biophys Res Commun.* 316: 763-770.
- Weaver RJ, Audsley N. (2008). *Peptides.* 29: 168-178.
- Weaver et al. (1998). *Recent advances in arthropod endocrinology.* University Press, p. 3-32.
- Williamson et al. (2001a). *Biochem Biophys Res Commun.* 281: 544-550.
- Williamson et al. (2001b). *Biochem Biophys Res Commun.* 282: 124-130.
- Woodhead et al. (1989). *Proc Natl Acad Sci USA.* 86: 5997-6001.
- Yassine et al. (2012). *PLoS Pathog.* 8(11), e1003029.
- Zitnan et al. (1993). *Dev Biol.* 156: 117-135.
- Zitnan et al. (1995). *J Comp Neurol.* 356: 83-100.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## NUEVAS ESTRATEGIAS PARA INTERRUMPIR LA TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR ARTRÓPODOS

Vargas V, Cime CJ, Lanz MH\*.

Instituto Nacional de Salud Pública.  
humberto@insp.mx

Palabras claves: *Aedes aegypti*, DENV, siRNA.

### Introducción

Los mosquitos son el grupo de insectos que transmiten el mayor número de enfermedades con importancia médica en los humanos, causando miles de decesos anualmente a nivel mundial. Las técnicas comunes para la erradicación de estos vectores contemplan la reducción de criaderos de mosquitos (contenedores de agua, bebederos, recipientes que acumulan agua, floreros y cacharros en general) para eliminar los posibles sitios de oviposición y por lo tanto del crecimiento y acumulación de mosquitos adultos. Aunado a la eliminación de criaderos, el tratamiento de los cuerpos de agua con organofosforados como el Themefos® elimina la presencia de larvas, principalmente *Aedes* sp, *Anopheles* sp y *Culex* sp por lo que es un excelente método para el control larval, el rociado con insecticidas en lugares con abundancia de adultos también merma las poblaciones de mosquitos, no obstante el uso de estos componentes conlleva repercusiones ambientales que dañan el medio ambiente, problemas en la salud humana y disturbios en las poblaciones de otros insectos benéficos (Devine et al., 2019), sumado a la resistencia a los insecticidas por parte de las poblaciones de mosquitos debido a su constante uso. La falta de una vacuna adecuada para prevenir la infección en humanos y la resistencia de los mosquitos a varios insecticidas, ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias alternativas para impedir la transmisión por el vector. En este trabajo, se propone utilizar el "priming inmunológico" como una nueva estrategia de control biológico en los mosquitos para limitar su capacidad para transmitir el virus dengue (VD) y otros flavivirus. En nuestro grupo de trabajo, hemos demostrado que mosquitos adultos que fueron inmunizados previamente con VD inactivado con luz UV (VDi) y posteriormente retados con VD activo (VDa), desencadenan una respuesta antiviral que disminuye las partículas virales infecciosas de VD, tanto en el intestino medio como en la carcasa (Serrato-Salas *et al.*, 2018). Aunque el priming inmunológico en mosquitos adultos reduce la carga viral, la inducción del priming en otras etapas de desarrollo aun no se ha reportado para ningún flavivirus. Recientemente, reportamos la inducción de priming inmunológico contra *Escherichia coli*, desde el estadio larval de *Aedes aegypti* (Moreno-García *et al.*, 2015). Además, se ha demostrado la susceptibilidad de las larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* a la infección para tres serotipos diferentes de VD (Bara *et al.*, 2013). Por otro lado, la manipulación de la respuesta inmune de las etapas de desarrollo de *Ae. aegypti*, podrían facilitar su uso práctico en la campo. Por lo tanto, la inducción de priming inmunológico en larvas de *Ae. aegypti* y la susceptibilidad a tres serotipos diferentes de VD, nos sugieren que el priming inmunológico durante el estado larval con VDi podría mejorar la respuesta inmunitaria antiviral de los mosquitos adultos, frente a un segundo reto con VDa.

En el presente estudio, se indujo la condición de resistente del VD en mosquitos adultos después de inducir el priming inmunológico en las larvas del tercer estadio con DVi del serotipo 4. Se analizó la dinámica de la infección después del segundo reto en mosquitos adultos individuales inmunizados





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

(Pr) y no inmunizados (UnPr), se evaluó usando excreta individual como se describe recientemente por Fontaine *et al.*, (2016). Se evaluó la respuesta inmunitaria antiviral analizando la expresión relativa de marcadores de la vía de los pequeños interferentes de RNA (siRNA, por sus siglas en inglés) como Argonaute-2 (AGO-2) Dicer-2 (DCR-2) y R2D2 (Obbard *et al.*, 2009; Palmer *et al.*, 2018), así como el factor del interferón, como VAGO (Paradkar *et al.*, 2012; 2014).

### Objetivos

Inducir la resistencia de mosquitos adultos de *Ae. aegypti*, activando el sistema inmunitario de las larvas a través del priming en el estado larval con VDi (serotipo 4).

### Métodos

Se criaron los mosquitos de *Ae. aegypti* en el insectario del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), en condiciones controladas con una temperatura media 28-30 °C, una humedad media del 60-80% y un fotoperiodo de 12:12. Fueron expuestas 200 larvas en cajas petric con 198 ml de agua estéril de grifo y 2 ml de VDi por 24 horas. Posteriormente, son retiradas del medio y lavadas tres veces con agua estéril de grifo y colocadas en palanganas de 2 litros de agua para que continúen con su desarrollo hasta mosquito adulto. Los moscos adultos entre 3-5 días post-emergencia, son infectados con VDa con un título viral  $2.1 \times 10^7$  UFP/ml por 1 hora. Son seleccionadas las hembras que se encuentren completamente llenas de sangre y colocadas individualmente en recipientes de plástico con un papel filtro al fondo del recipiente para ser colectadas las excretas de los moscos (Fontaine *et al.*, 2016).

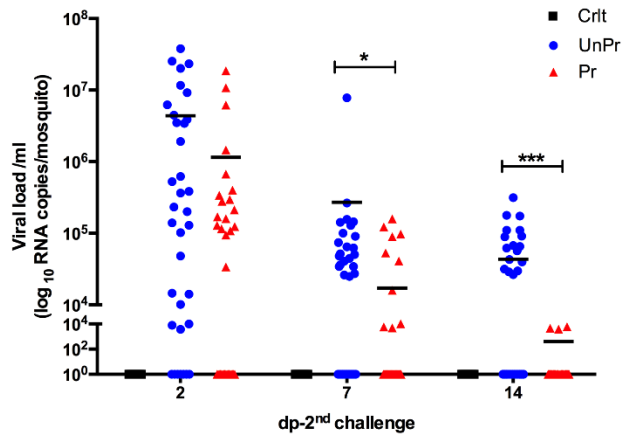
Se realizó la extracción de ARN de las excretas por el método de *Trizol*, para posteriormente analizar la dinámica de la infección del VD después del segundo reto en mosquitos adultos individuales con y sin *priming inmunológico* desde larva. Se analizó la respuesta inmunitaria antiviral evaluando la expresión relativa de marcadores de siRNA como Argonaute-2 (AGO-2) Dicer-2 (DCR-2) y R2D2 (Obbard *et al.*, 2016), así como VAGO, que es un análogo al interferón; la expresión de estas moléculas se midió por PCR cuantitativo.

### Resultados

Observamos que después del *priming inmunológico* en el tercer estadio larvario de *Ae. aegypti*, se indujo una mejor respuesta inmune antiviral en mosquitos adultos, reduciendo la carga viral y la replicación del VD (Figura 1).

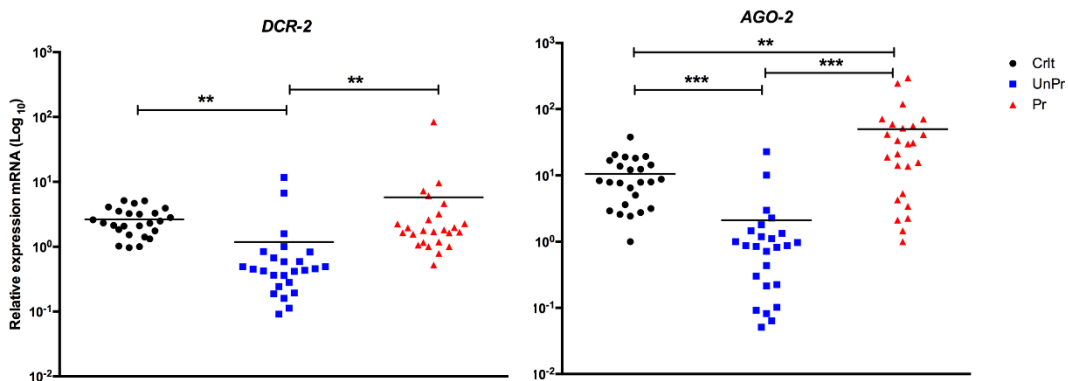


# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA



**Figura 1:** Inter-variación de la carga viral de DENV detectada en excrementos de mosquitos individuales, a 2, 7 y 14 dp-2<sup>o</sup> reto. El círculo azul representa copias de ARN DENV de mosquitos no inmunizados (*UnPr*;  $N = 27$ ); el triángulo rojo representa mosquitos inmunizados individuales (*Pr*;  $N = 29$ ) y el cuadrado negro representa mosquitos adultos que fueron alimentados con sangre de conejo (*Crt*;  $N = 30$ ). El valor  $P$  representan el grado de significancia estadística basada en la prueba *U* de Mann-Whitney. (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ). Los valores se expresan como la media  $\pm$  SE.

Los mosquitos adultos previamente inmunizados desde el estado larval, expresaron un incremento en los transcritos de *AGO-2* y *DCR-2* (Figura 2).

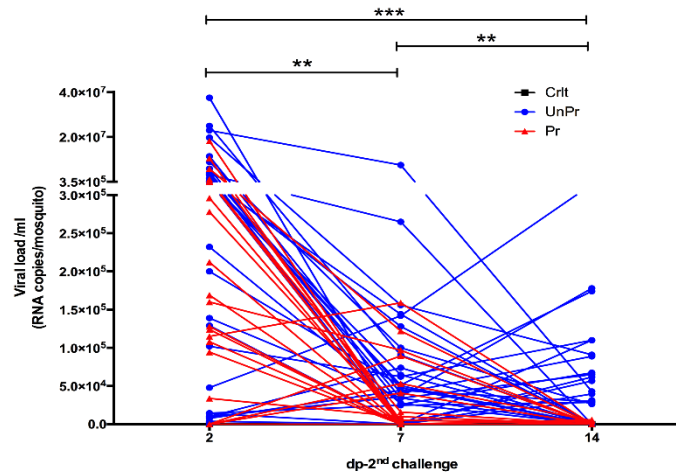


**Figure 2:** Efecto del priming inmunológico en la expresión relativa de (A) *DCR-2* y (B) *AGO-2* en abdomen individuales de mosquitos a 21 dp-2<sup>o</sup> reto. El círculo azul representa mosquitos sin inmunizar (*UnPr*;  $N = 25$ ); el triángulo rojo representa a los mosquitos inmunizados (*Pr*;  $N = 25$ ) y el cuadrado negro representa a los mosquitos que fueron alimentados con sangre de conejo (*Crt*;  $N = 25$ ). Los valores  $P$  representan el grado de significancia estadística según la prueba de Wilcoxon (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ). Los valores se expresan como la media  $\pm$  SE.

Además, observamos una variación inter-individual de la infección por VD en mosquitos adultos, lo que indica una respuesta heterogénea a la infección por VD en la misma cepa de mosquitos ya que fueron retados con el mismo serotipo VD a una misma concentración viral (Figura 3).

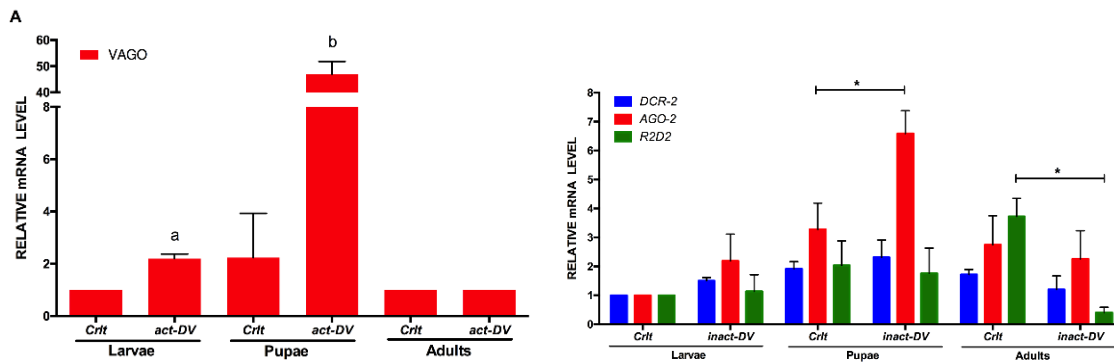


# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA



**Figura 3:** Dinámica de la infección por VD de cada excreta de mosquitos individuales, a 2, 7 y 14 dp-2<sup>o</sup> reto. La línea azul representa copias de ARN viral de mosquitos no inmunizados (*UnPr*;  $N = 27$ ); la línea roja representa los mosquitos inmunizados (*Pr*;  $N = 29$ ) y la línea negra representa los mosquitos que fueron alimentados con sangre de conejo (*Crt*;  $N = 30$ ). Los valores  $P$  representan el grado de significancia estadística basada en la prueba de 2-way ANOVA RM (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ).

Los mosquitos inmunizados desde larvas lograron controlar la infección, reduciendo su replicación viral. También se observó una sobreexpresión de *VAGO* y *AGO-2* en la etapa de pupa, sugiriendo una rápida activación de los mecanismos antivirales después del *priming inmunológico* en larvas, produciendo un estado de resistencia para nuevos encuentros en mosquitos adultos (Figura 4).



**Figura 4:** Expresión relativa de A) *VAGO* en larvas, pupas y mosquitos adultos después de haber sido expuestos a VDa ( $2.1 \times 10^7$  UFP/ml) en estado de larva durante 24 horas. y B) *DCR-2*, *AGO-2* y *R2D2* en larvas, pupas y mosquitos adultos después de haber sido expuestos a VDi en estado de larva durante 24 horas. El grupo *Crt* se expuso solo con agua estéril. Las letras sobre el gráfico (a y b) indican diferencias estadísticas en la media de la expresión relativa entre los tratamientos de acuerdo con la prueba *Múltiples t por pares* con corrección de *Holm* para pruebas múltiples. La



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

expresión relativa que no es significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos no tienen letra. Los valores se expresan como la media  $\pm$  SE

### Conclusiones

Este es el primer reporte en el que se demuestra que un reto inmune con *VDi* en la etapa de larva de *Ae. aegypti*, mejora la respuesta inmune antiviral en los mismos insectos cuando se convierten en adultos y se protegen de una segunda infección con *VDa*.

### Referencias bibliográficas

- Devine GJ., Overgaard HJ & Paul RE. (2019) Global vector guidelines- The need for Co-creation. *Trends Parasitol.* 35: (4) 267-270.
- Serrato-Salas, J., Izquierdo-Sanchez, J., Argüello, M., Conde, R., Alvarado-Delgado, A., et al., (2018). *Aedes aegypti* antiviral adaptive response against DENV-2. *Developmental and Comparative Immunology.* 84:28-36. doi: 10.1016/j.dci.2018.01.022.
- Moreno-García, M., Vargas, V., Ramírez-Bello, I., Hernández-Martínez, G. and Lanz-Mendoza, H. (2015). Bacterial exposure at the larval stage induced sexual immune dimorphism and priming in adult *Aedes aegypti* mosquitoes. *PLoS One.* 10:1-19. doi: 10.1371/journal.pone.0133240
- Bara, J.J., Clark, T.M. and Remold, S. K. (2013). Susceptibility of larval *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) to Dengue virus. *Journal of Medical Entomology.* 50:179-184
- Fontaine, A., Jiolle, D., Moltini-Conclois, I., Lequime, S. and Lambrechts, L. (2016). Excretion of dengue virus RNA by *Aedes aegypti* allows non-destructive monitoring of viral dissemination in individual mosquitoes. *Scientific Reports.* 6:24885. doi: 10.1038/srep24885.
- Obbard, D. J., Gordon, K. H. J., Buck A. H. and Jiggins, F. M. (2009). The evolution of RNAi as a defence against viruses and transposable elements. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364:99-115. doi:10.1098/rstb.2008.0168
- Palmer, W. H., Varghese, F. S. and van Rij, R. P. (2018). Natural Variation in Resistance to Virus Infection in Dipteran Insects. *Viruses.* 10:118. doi:10.3390/v10030118
- Paradkar, P.N., Duchemin, J-B., Voysey, R. and Walker, P.J. (2014). Dicer-2-Dependent activation of *Culex Vago* occurs via the TRAF-Rel2 signaling Pathway. *PLoS Neglected Tropical Diseases.* 8:4. doi: 10.1371/journal.pntd.0002823
- Paradkar, P.N., Trinidad, L., Voysey, R., Duchemin, J-B. and Walker, P.J. (2012). Secreted Vago restricts West Nile Virus infection in *Culex* mosquitoes cells by activating the Jak-STAT pathway. *PNAS.* 109:18915-18920. doi: 10.1073/pnas.1205231109



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES

Fernández SI<sup>1,2</sup>, Rodríguez RJJ<sup>2</sup>, Sánchez CRM<sup>2,3</sup>

Laboratorio de Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas<sup>1</sup>. Unidad de Patógenos Emergentes, Reemergentes y Vectores, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud<sup>2</sup>. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia<sup>3</sup>. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.

### Introducción

En la última década se ha caracterizado por los reportes de brotes de enfermedades emergentes y reemergentes en puntos geográficos muy lejanos de sus orígenes iniciales. Aunque se entiende que la globalización de la economía y del aumento de viajes inter e intra-continenciales, los cambios regionales en patrones climáticos parecen jugar un papel más influyente en la explicación de estas epidemias y zoonosis. La Organización Mundial de la Salud ya considera una amenaza a la salud pública el fenómeno del cambio climático asociado al calentamiento global. El aumento improporcionado de la temperatura mundial considera el mundo científico, se debe al aumento proporcional en la cantidad de emisiones de los llamados gases de invernadero por actividad humana<sup>1</sup>. Los efectos se evalúan a través de los cambios en tendencias de lluvias y temperaturas ambientales, sequías, huracanes e inundaciones, contaminación ambiental y aumentos en los niveles del agua en zonas costeras; además de sus impactos en los ciclos de cultivos agrícolas. Desde el 2016, la cuenta regresiva de la iniciativa Lancet ha estado siguiendo muy estrechamente los cambios en salud y climáticos comprometidos con la implementación de Acuerdo de París<sup>2,3</sup>. Específicamente, el impacto en enfermedades infecciosas parece ser muy significativo<sup>1</sup>. Una revisión en Europa de los patógenos humanos y de animales domésticos asocia de manera significativa a casi dos tercios de ellos con los cambios paralelos en tendencias climáticas. Por otra parte, conocemos que las enfermedades humanas y de animales domésticos y silvestres han jugado un papel importante en la historia. Las epidemias de Peste Bubónica en Roma en el siglo II DDC, y de Atenas, Grecia, Siglo V, fueron registradas en libros de la Biblia; y la misma epidemia llamada de Muerte Negra arrasó con casi la mitad de la población de Europa en el Siglo XIV. La conquista de los nuevos territorios de las Américas, Australia y África del Sur facilitaron la importación de nuevos gérmenes como sarampión y viruela que diezmo las poblaciones indígenas susceptibles<sup>4</sup>.

Recientemente, en los años 2014-2016 la más grande epidemia conocida de Ébola devastó las poblaciones vulnerables de Sierra Leona, Liberia y Guinea. Estas fueron seguidas de las epidemias por el virus del Zika que afectó América Latina, el Caribe y parte de Asia y África. El Zika también fue reportado con transmisión autóctona en el sur de Florida y Texas. El impacto negativo de las enfermedades infecciosas en la salud y en el bienestar de la humanidad se enlaza a la combinación de variables múltiples como niveles bajos de saneamiento, acceso limitado a agua y comida limpia, mala calidad de servicios públicos, conflictos políticos, resistencia a fármacos, y movimientos de migración humana y de ganado.<sup>5</sup> Nosotros hemos contribuido impactando con uso extensivo de suelo (deforestación y aforestación con actividades agrícolas), construcción de más presas, y medidas para control de enfermedades como las vacunas y desarrollo de más fármacos, uso intensivo de insecticidas. El clima tiene impacto directo en la dinámica de enfermedades transmitidas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

por vectores, algunas llevadas a través de agua contaminada como el cólera y otras más por el suelo y alimentos. También están asociados factores indirectos como los socio-económicos, por ejemplo en una inundación las medidas de control se ven interrumpidas en ese lugar. Las enfermedades transmitidas por vectores utilizan artrópodos los cuales son muy sensibles a cambios climáticos. Ellos son ectotérmicos, es decir regulan su temperatura por condiciones ambientales externas. El desarrollo larvario frecuentemente requiere la presencia de cuerpos de agua. La frecuencia de las picaduras tiende a incrementarse con la temperatura; mientras que el desarrollo y replicación de sus patógenos dentro de su cuerpo (llamado período extrínseco de incubación) también se acelera por temperaturas más elevadas. De esta manera, la tasa de supervivencia es afectada directamente. Los parámetros entomológicos afectados por la lluvia y temperatura se combinan en la tasa máxima de reproducción de casos de la enfermedad: la capacidad vectorial.

### Estudios Recientes: Malaria

El Paludismo o Malaria humana es transmitido por mosquitos del género *Anopheles*. La forma tropical, *Plasmodium falciparum*, causa la manifestación clínica más grave; y está presente en África causando más de 90% de los casos de malaria. Utilizando modelos matemáticos, se ha estimado el potencial impacto del cambio climático en la distribución y severidad del Paludismo. En general se estima que los mosquitos vectores se irán dispersando a nuevas regiones de África, Europa, Asia y Estados Unidos; pero, aunque la mayoría de estos países son ricos y tienen suficientes medicamentos antipalúdicos e insecticidas, los casos aumentarán en aquellos países con conflictos económicos surgidos a consecuencia de problemas políticos; esto ya se documentó con epidemias locales de *Plasmodium vivax* en Grecia; y recientemente en Venezuela.

Arbovirus importantes: Dengue, Chikungunya, Fiebre Amarilla, Zika y Virus del Nilo Occidental.

Los arbovirus como Dengue, Zika, Fiebre Amarilla y Chikungunya son transmitidos por los mosquitos *Aedes albopictus* (mosquito tigre asiático) y *Aedes aegypti* (mosquito de la Fiebre Amarilla). El Dengue es la enfermedad transmitida por mosquitos que se esparce más rápido con un incremento de 30 veces en la incidencia global en los últimos 50 años y un estimado de 100 a 390 millones de casos reportados con el Dengue alrededor del mundo cada año.<sup>6-7</sup> Estos vectores se han dispersado a nuevas áreas debido a la globalización y el comercio internacional.<sup>8</sup> Este grupo de enfermedades plantean una seria preocupación por los servicios de salud pública,<sup>7</sup> debido al gran potencial con el que cuentan los mosquitos *Aedes* para transmitir virus en entornos urbanos,<sup>9</sup> y el riesgo de transmisión autóctona de las enfermedades al regresar los viajeros infectados en regiones endémicas de vectores.<sup>10</sup>

El mosquito de la fiebre amarilla, *Ae. aegypti*, es considerado el vector urbano más eficiente del Dengue en entornos tropicales y subtropicales, mientras que *Ae. albopictus* está más adaptado a regiones con un clima templado (ej. Estados Unidos, Europa, Japón, y algunas partes de China).<sup>11</sup> Cada vez hay más evidencia de que (a) el reciente cambio climático ha favorecido a *Ae. albopictus* para permanecer en regiones templadas después de invadirlas, debido a la hibernación y las condiciones de temperatura anual; (b) el mosquito aún no ha completado su potencial en su nicho ecológico; y (c) el futuro cambio climático podría mantener su establecimiento en latitudes más altas en regiones templadas.<sup>12</sup> La actual distribución de *Ae. aegypti* se encuentra más restringida a los



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

trópicos y subtropicos,<sup>7</sup> y futuros escenarios sugieren un cambio latitudinal moderado en su potencial nicho ecológico porque sus huevos no toleran las temperaturas invernales.<sup>12</sup>

Se han empleado varios enfoques de modelización de enfermedades mecanicistas y estáticas para proyectar la futura distribución del Dengue.<sup>13</sup> Estos estudios generalmente proyectan un incremento en la carga general del Dengue, pero falta un consenso claro con respecto a las regiones del mundo, en las que se espera que la transmisión incremente y se expanda o se contraiga y disminuya.<sup>14</sup> Un estudio reciente resalta que las futuras condiciones climáticas podrían ser cada vez más adecuadas para la transmisión del Dengue en el Sur de Europa en el verano.<sup>15</sup> Proyecciones recientes realizadas para Chikungunya han demostrado que cada vez son más adecuadas las condiciones climáticas de regiones templadas de Europa Occidental (Francia, Benelux y Alemania) para el futuro.<sup>16</sup> Se espera que el estimado aumento en la urbanización (especialmente en barrios marginados urbanos) y las tendencias crecientes en el comercio internacional y los viajes se amplifique, en lugar de reducir los efectos futuros de la temperatura en estas enfermedades.<sup>17</sup>

En 2015, un brote del virus del Zika se presentó en Brasil antes de esparcirse a la mayoría de los países en el Sur y Centro de América y del Caribe. En años subsecuentes, el virus del Zika circulaba en algunos países de África y el Sudeste de Asia. En el verano del 2017, ocurrió una transmisión limitada y local en Texas, Florida y en el Sur de los Estados Unidos. El virus probablemente se introdujo en el noreste de Brasil por un viajero en 2014; el primer caso humano fue detectado subsecuentemente en Mayo del 2015.<sup>18</sup> El virus del Zika se transmite principalmente por la picadura de mosquitos *Aedes* infectados, y también puede transmitirse sexualmente. Causa complicaciones neurológicas graves como la microcefalia en nonatos, y con menor frecuencia, una enfermedad autoinmune paralizante llamada Síndrome de Guillain-Barré.<sup>19</sup> La OMS declaró el virus del Zika como una Emergencia de Salud Pública de interés internacional en Febrero del 2016. El final de esta emergencia se declaró en Noviembre del 2016 cuando el número de casos infectados disminuyó de manera significativa.

Cuando el brote comenzó, los científicos enfatizaron que el “El Niño en 2015 había causado condiciones climáticas excepcionales en el norte-este de Sudamérica durante el invierno y la primavera en el Hemisferio Sur”.<sup>20</sup> Esta declaración fue en acuerdo con estudios previos que demostraban un vínculo significativo entre el fenómeno climático El Niño, anomalías climáticas regionales, y epidemias de Dengue en Sudamérica y en el Sudeste de Asia.<sup>21</sup> La fase positiva de la Oscilación del Sur de El Niño se ha asociado con muchos brotes de enfermedades infecciosas en todo el mundo, incluida la fiebre del Valle del Rift, la Malaria y el cólera en África Oriental; incrementando así el riesgo de transmisión de arbovirus y Malaria en América Latina y el sudeste asiático; y brotes de malaria y cólera en la India, y esto es solo la punta del iceberg.<sup>22</sup> El Niño es una oscilación climática natural; sin embargo, ahora ocurre con un fondo de temperatura de la superficie del mar más cálido y esto plantea serias implicaciones para la salud en el futuro, en particular en el cinturón tropical.<sup>23</sup> Un modelo promovido por la precipitación y la temperatura de la relación de reproducción básica de la enfermedad ( $R_0$ , el número de infecciones secundarias producidas por un solo caso introducido en una población completamente susceptible) para el virus del Zika confirmó más tarde que las condiciones climáticas relacionadas con El Niño 2015-2016 fueron óptimas para el riesgo de transmisión del virus del Zika transmitido por mosquitos en América Latina.<sup>24</sup>



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Muchos otros factores contribuyeron sinérgicamente a la gravedad de la epidemia de Zika en América Latina en 2015-2016. Es muy probable que las poblaciones de América del Sur y el Caribe fueran completamente susceptibles a la infección antes de que se introdujera el virus.<sup>25</sup> Además, el almacenamiento de agua en contenedores durante las sequías en barrios marginales urbanos se combinó con el comportamiento antropofílico del *Ae. aegypti*, la inestabilidad política, el comportamiento humano y otros desastres naturales muy probablemente llevaron a la epidemia.<sup>26</sup> Es muy difícil desarrollar escenarios futuros para el riesgo de Zika, dado que el nivel de inmunidad de la multitud después de la exposición a gran escala de las poblaciones humanas debería evitar un gran brote en América del Sur en la próxima década.<sup>25</sup> Sin embargo, las regiones semi-tropicales y templadas donde las poblaciones nunca han estado expuesto al virus del Zika y donde los vectores de *Aedes* competentes y las condiciones ambientales adecuadas coexisten deben ser estrictamente inspeccionadas por los servicios de salud pública.

La Fiebre Amarilla también ha resurgido en la República Democrática del Congo y Angola en 2015-2016 y en Brasil en 2017-2018. Teóricamente, la Fiebre Amarilla no debería de ser un problema, dada la disponibilidad de una vacuna eficaz que proporcione inmunidad a la infección de por vida. Sin embargo, las recientes epidemias en África y Brasil, combinadas con el número limitado de fabricantes de vacunas aprobados por la OMS, agotaron significativamente la reserva mundial de vacunas disponibles. La vigilancia debe concentrarse en áreas urbanas y barrios marginales donde *Ae. aegypti*, el mosquito antropofílico de la Fiebre Amarilla está presente.

El Virus del Nilo Occidental (VNO), que infecta a las aves, los humanos, los caballos y otros mamíferos, es el flavivirus encefalítico más ampliamente distribuido. El VNO se transmite principalmente por mosquitos *Culex* en todos los continentes, excepto en la Antártida. Muchos estudios ya han discutido la importancia del clima en la conducción de las epidemias de la ciudad.<sup>27</sup> El VNO ha circulado en África desde la década de 1930 y apareció por primera vez en la ciudad de Nueva York en los Estados Unidos en 1999. El VNO se extendió rápidamente a cuatro estados del noreste de los Estados Unidos, llegando finalmente a California durante el verano de 2003.<sup>28</sup> Las condiciones invernales más suaves, combinadas con sequías durante la temporada boreal de primavera, se asociaron con un mayor riesgo de transmisión del VNO por mosquitos urbanos en los Estados Unidos.<sup>29</sup> Los eventos de lluvia extrema también se asociaron con un mayor riesgo de transmisión del VNO. Dado que el período de incubación extrínseca del VNO en los mosquitos *Culex* se acorta significativamente cuando aumenta la temperatura, el cambio climático indudablemente afectará las futuras epidemias de VNO.<sup>30</sup>

### Enfermedades transmitidas por garrapatas

Las garrapatas *Ixodes* pueden transmitir bacterias como *Borrelia* (causante de Lyme) y virus de Flaviviridae (encefalitis). Lyme, es la enfermedad más común que afecta a los humanos. La lluvia, humedad y temperatura afectan el ciclo de vida y hábitat de garrapatas *Ixodes*.<sup>31</sup>

*Ixodes ricinus*, garrapata de las ovejas, ha ampliado su distribución geográfica y actividad estacional en Europa durante la última década,<sup>32</sup> incluyendo su desplazamiento a Suecia y Noruega. Este cambio hacia el norte y el aumento de la actividad están relacionados con inviernos más suaves y temporadas de primavera y otoño más prolongados desde 1990, aunado una mayor cobertura vegetal y propagación de ciervos portadores de garrapatas en dichas regiones.<sup>33</sup> Tendencias similares se han observado en los países bálticos y el norte de Polonia. En los Alpes y montañas de





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cárpatos de Europa central en una altitud desde 700 m hasta 1200m desde 1950 hasta el 2000.<sup>34</sup> Los escenarios futuros indican una expansión adicional de *I. ricinus* en el norte y este de Europa.<sup>35</sup> El número de casos de Lyme en Europa aumento considerablemente de 3000 en 1990 hasta 35,000 a fines del 2000.<sup>36</sup>

En Estados Unidos se han observado tendencias similares. *Ixodes scapularis*, (garrapata del venado) en la costa este e *Ixodes pacificus*, en la costa oeste, se han extendido hacia el norte entre 1996 y 2015.<sup>37</sup> Lyme se ha duplicado en Estados Unidos desde 1990 a la actualidad, reportando hasta 300,000 casos<sup>38</sup> y otros han advertido sobre la expansión hacia el norte de Canadá de *I. scapularis* y las enfermedades que transmiten.

La incidencia de Lyme ha aumentado de 0.4 a 2.7 por 100.000 habitantes del 2009 al 2016 en Canadá; 88% de los casos se notificaron en provincias de Quebec, Ontario y Nueva Escocia.<sup>39</sup> El aumento del calentamiento global está limitado a 1.5 °C, considerando del acuerdo de París, y de acuerdo con simulaciones Lyme podría extenderse más al norte en Canadá en el futuro.<sup>40</sup>

Rusia también ha experimentado un aumento en la población de *Ixodes* y las enfermedades transmitidas por las mismas.<sup>41</sup> Otros patógenos importantes transmitidos por garrapatas (babesiosis, fiebre hemorrágica de Crimea-Congo y rickettsiosis) también son sensibles al clima.<sup>42</sup>

Los patrones descritos para la transmisión de enfermedades transferidas por garrapatas, incluyen: cambio altitudinal y latitudinal. Se han observado en regiones templadas y peri árticas del Hemisferio Norte durante la última década. Todo relacionado con el impacto directo del cambio climático en los hábitats de garrapatas *Ixodes*, con temperaturas más propicias e inviernos más suaves. Sin embargo, este no es el único factor que causa el desplazamiento de la garrapata; hay que considerar factores antropogénicos y naturales así como anfitriones de animales salvajes (ciervos, otros cérvidos, pájaros y roedores) también llevan garrapatas a nuevas regiones, la forestación y manejo de vida silvestre son importantes conductores.<sup>43</sup> La expansión de ciudades y áreas urbanas en zonas verdes, combinadas con un el aumento de excursionistas, también está cambiando la exposición de humanos y animales domésticos a patógenos transmitidos por garrapatas.

### Referencias bibliográficas

- Caminade C., K. Marie McIntre, and A. E. Jones. 2019. Impact of recent and future climate changes on vector-borne diseases. *Ann. New York Acad. Sci.* 157-173.
- Watts, N., W.N. Adger, S. Ayeb-Karlsson, et al. 2017. The Lancet Countdown: tracking progress on health and climate change. *Lancet* 389: 1151–1164.
- Watts, N., M. Amann, S. Ayeb-Karlsson, et al. 2018. The Lancet Countdown on health and climate change: from 25 years of inaction to a global transformation for public health. *Lancet* 391: 581–630.
- Diamond, J. 1997. *Guns, Germs, and Steel: the Fates of Human Societies*. Vol. 44. New York Review Books.
- Woolhouse, M.E. & S. Gowtage-Sequeria. 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1842–1847.
- World Health Organization (WHO). 2009. *Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control-New Edition*; WHO: Geneva, Switzerland.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Bhatt, S., P.W. Gething, O.J. Brady, et al. 2013. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496: 504–507.
- Benedict, M.Q., R.S. Levine, W.A. Hawley, et al. 2007. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 7: 76–85.
- Gubler, D.J. 2011. Dengue, urbanization and globalization: the unholy trinity of the 21(st) century. *Trop. Med. Health* 39: 3–11.
- Perkins, T.A., C.J. Metcalf, B.T. Grenfell & A.J. Tatem. 2015. Estimating drivers of autochthonous transmission of chikungunya virus in its invasion of the Americas. *PLoS Curr.* 7.
- Gould, E.A. & S. Higgs. 2009. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 103: 109–121.
- Campbell, L.P., C. Luther, D. Moo-Llanes, et al. 2015. Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 370.
- Jetten, T.H. & D.A. Focks. 1997. Potential changes in the distribution of dengue transmission under climate warming. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57: 285–297.
- Messina, J.P., O.J. Brady, D.M. Pigott, et al. 2015. The many projected futures of dengue. *Nat. Rev. Microbiol.* 13: 230–239.
- Liu-Helmerson, J., M. Quam, A. Wilder-Smith, et al. 2016. Climate change and Aedes vectors: 21st century projections for dengue transmission in Europe. *EBioMedicine* 7: 267–277.
- Tjaden, N.B., J.E. Suk, D. Fischer, et al. 2017. Modelling the effects of global climate change on Chikungunya transmission in the 21(st) century. *Sci. Rep.* 7: 3813.
- Campbell-Lendrum, D., L. Manga, M. Bagayoko, et al. 2015. Climate change and vector-borne diseases: what are the implications for public health research and policy? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 370.
- Faria, N.R., J. Quick, I.M. Claro, et al. 2017. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. *Nature* 546: 406–410.
- Epelboin, Y., S. Talaga, L. Epelboin, et al. 2017. Zika virus: an updated review of competent or naturally infected mosquitoes. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11: e0005933.
- Paz, S. & J.C. Semenza. 2016. El Niño and climate change — contributing factors in the dispersal of Zika virus in the Americas? *Lancet* 387: 745.
- Patz, J.A., D. Campbell-Lendrum, T. Holloway, et al. 2005. Impact of regional climate change on human health. *Nature* 438: 310–317.
- Hales, S., P. Weinstein, Y. Souares, et al. 1999. El Niño and the dynamics of vector borne disease transmission. *Environ. Health Perspect.* 107: 99–102.
- Cai, W.J., S. Borlace, M. Lengaigne, et al. 2014. Increasing frequency of extreme El Niño events due to greenhouse warming. *Nat. Clim. Change* 4: 111–116.
- Caminade, C., J. Turner, S. Metelmann, et al. 2017. Global risk model for vector-borne transmission of Zika virus reveals the role of El Niño 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114: 119–124.
- Ferguson, N.M., Z.M. Cucunuba, I. Dorigatti, et al. 2016. Epidemiology. Countering the Zika epidemic in Latin America. *Science* 353: 353–354.
- Human Rights Watch. 2017. Neglected and unprotected: the impact of the Zika outbreak on women and girls in northeastern Brazil. Human Rights Watch. [https://www.hrw.org/sites/default/files/report\\_pdf/wrdzika0717\\_web\\_0.pdf](https://www.hrw.org/sites/default/files/report_pdf/wrdzika0717_web_0.pdf). Accessed July 30, 2018.
- Paz, S. 2015. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 370.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Reisen, W., H. Lothrop, R. Chiles, et al. 2004. West Nile virus in California. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 1369–1378.
- Epstein, P.R. 2001. West Nile virus and the climate. *J. Urban Health* 78: 367–371.
- Reisen, W.K., Y. Fang & V.M. Martinez. 2006. Effects of temperature on the transmission of West Nile Virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 43: 309–317.
- Suss, J., C. Klaus, F.W. Gerstengarbe, et al. 2008. What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases. *J. Travel. Med.* 15: 39–45.
- Medlock, J.M., K.M. Hansford, A. Bormane, et al. 2013. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit. Vectors* 6: 1.
- Lindgren, E., L. Talleklint & T. Polfeldt. 2000. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environ. Health Perspect.* 108: 119–123.
- Danielova, V., M. Daniel, L. Schwarzova, et al. 2010. Integration of a tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato into mountain ecosystems, following a shift in the altitudinal limit of distribution of their vector, *Ixodes ricinus* (Krkonoše mountains, Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10: 223–230.
- Alkishe, A.A., A.T. Peterson & A.M. Samy. 2017. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*. *PLoS One* 12: e0189092.
- ECDC. 2014. Fact sheet Lyme borreliosis in Europe. Accessed April 24, 2018. <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/vectors/world-healthday-2014/Documents/factsheet-lyme-borreliosis.pdf>.
- Eisen, R.J., L. Eisen & C.B. Beard. 2016. County-scale distribution of *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the Continental United States. *J. Med. Entomol.* 53: 349–386.
- Ogden, N.H., A. Maarouf, I.K. Barker, et al. 2006. Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *Int. J. Parasitol.* 36: 63–70.
- Government of Canada. 2018. Surveillance of Lyme disease. Vol. 2018. <https://www.canada.ca/en/publichealth/services/diseases/lyme-disease/surveillance-lymedisease.html>. Accessed July 30, 2018.
- McPherson, M., A. Garcia-Garcia, F.J. Cuesta-Valero, et al. 2017. Expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada inferred from CMIP5 Climate Projections. *Environ. Health Perspect.* 125: 057008.
- Korotkov, Y., T. Kozlova & L. Kozlovskaya. 2015. Observations on changes in abundance of questing *Ixodes ricinus*, castor bean tick, over a 35-year period in the eastern part of its range (Russia, Tula region). *Med. Vet. Entomol.* 29: 129–136.
- Estrada-Pena, A., N. Ayllon & J. de la Fuente. 2012. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Front. Physiol.* 3: 64.
- Randolph, S.E. 2004. Evidence that climate change has caused ‘emergence’ of tick-borne diseases in Europe? *Int. J. Med. Microbiol.* 293: 5–15.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SIMPOSIO PROTOZOOSIS PARASITARIAS

### ACTUALIDADES EN EL CONTROL DE LA COCCIDIOSIS OVINA Y CAPRINA AN UPDATE ON CONTROL STRATEGIES OF SHEEP AND GOAT COCCIDIOSIS

Alcalá-Canto Y.\*

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd.  
Universitaria, Coyoacán, México. CP 04510  
yazmin@unam.mx

Palabras clave: *Eimeria*, Control, Coccidiosis

#### Resumen

Los protozoarios parásitos del género *Eimeria* son los agentes causales de la coccidiosis en rumiantes. Esta enfermedad tiene un alto impacto en el ganado en el que la transmisión del parásito se ve favorecida por el alojamiento de alta densidad o intensivo de huéspedes susceptibles, así como por factores relacionados con el estrés. El control actual de la coccidiosis en los bovinos, ovinos y caprinos se lleva a cabo mediante la aplicación de medidas de bioseguridad combinadas con la administración en el alimento o terapéutica de fármacos. No obstante, pueden presentarse brotes e infecciones subclínicas que impactan significativamente la producción y se les relaciona comúnmente con una alta prevalencia del parásito, persistencia ambiental y una inadecuada aplicación de los fármacos. En este trabajo se revisan planteamientos recientes para el desarrollo de métodos de control y prevención de esta enfermedad, basados en las interacciones entre *Eimeria* y el hospedero.

#### Introducción

Las coccidias comprenden un grupo diverso de protozoarios obligados intracelulares de vertebrados, con unas pocas especies que infectan invertebrados. Estos parásitos han sido clasificados en el phylum Apicomplexa que se caracteriza por la presencia de un conjunto de organelos dentro del extremo anterior de los estadios invasivos. Los agentes causales de la coccidiosis intestinal en rumiantes son organismos del género *Eimeria* que se desarrollan dentro de las células epiteliales del intestino de los hospederos (Bangoura et al., 2012). Los factores considerados en la estimación de pérdidas provocadas por la coccidiosis en rumiantes incluyen: mortalidad, retraso en el crecimiento y costos generados por tratamientos. Las pérdidas indirectas se deben principalmente a la disminución del crecimiento y al retraso en la conversión alimenticia. La coccidiosis clínica provoca lesiones patógenas severas en el intestino de los rumiantes y la atrofia de las vellosidades intestinales puede ser una secuela que resulte en mala absorción (Hermosilla et al., 2015).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Interacciones de *eimeria* con la célula hospedera

Los esporozoitos liberados deben atravesar el epitelio intestinal para poder invadir las células endoteliales de los capilares linfáticos centrales de las vellosidades del íleon, en donde se lleva a cabo la primera merogonia. Los esporozoitos forman una vacuola parasitófora y desarrollan los macromerontes que llegan a producir hasta 120,000 meronzoitos tipo I por meronte en un transcurso de 14-18 días (Hermosilla et al., 2012). También se han documentado ciclos biológicos de esporozoitos de otras especies de *Eimeria* que se reproducen en las células endoteliales del huésped formando macromerontes. De hecho, las especies más patógenas en rumiantes, tales como *E. zuernii*, *E. ninakohlyakimovae*, *E. arloingi*, *E. christensenii* y *E. bakuensis* se diferencian de las que infectan ratones y aves con respecto a la especificidad del esporozoito por las células endoteliales del huésped, formación de macromerontes y reproducción asexual prolongada. El sitio endotelial de la infección puede, entonces, reflejar una estrategia diferente de interacción, buscando un nicho distinto en el intestino del rumiante. Por lo tanto, parece ser que una vez que el esporozoito de *E. bovis* comienza a crecer y proliferar, debe también obtener los nutrientes de la célula endotelial del huésped. Además, la replicación masiva de *E. bovis* requiere una gran biogénesis de membranas para la nueva progenie (más de 120,000 merontes). Adicionalmente, el hecho de que la célula endotelial del huésped se alargue más allá de su tamaño fisiológico debe causar un estrés considerable. El estrés celular, es, por su parte, un inductor de mecanismos de defensa celular del huésped y apoptosis (Alcala-Canto and Ibarra-Velarde, 2008).

### Interacciones inmunológicas y metabólicas

Las células endoteliales son altamente inmunoreactivas y producen un amplio rango de moléculas de adhesión, citocinas y quimocinas proinflamatorias después de su activación, iniciando por lo tanto una migración leucocitaria al sitio de infección. Después de una primera infección los animales permanecen protegidos y las infecciones posteriores no se relacionan generalmente con la enfermedad clínica, aunque algunos ooquistes se excreten. El grado de inmunidad depende de la cantidad de ooquistes ingeridos durante la infección primaria; la exposición a unos pocos o números moderados de ooquistes no proporcionan el estímulo antigénico necesario para desencadenar una respuesta inmune suficiente que pueda prevenir la enfermedad posterior. La inmunidad protectora se refuerza por una exposición continua a los ooquistes. Los anticuerpos del calostro, particularmente la subfracción IgG1, pero también la IgG2 e IgM se transfieren a las crías. Se ha demostrado que la IgG2 es la fracción principal de la respuesta inmune a la infección y esto se ha atribuido a una respuesta tipo Th2 que estimula la síntesis de IgG2 a través de las células NK que liberan IFN $\gamma$ . Sin embargo, es posible que el tipo de respuesta serológica varíe dependiendo del nivel de infección. A pesar de que los anticuerpos reflejan una exposición a las coccidias, no confieren protección. La inmunidad protectora es principalmente del tipo celular y específica de especie. Se ha asumido que las células CD4 son particularmente importantes en este respecto y pueden transferirse a través del calostro. A pesar de que los linfocitos T activados no son capaces de abrogar el ciclo de vida del parásito en la infección primaria, la respuesta celular puede interactuar con el nivel y duración de la excreción de ooquistes, posiblemente al liberar especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico. Con respecto a la inmunidad innata, se ha descrito que los polimorfonucleares forman trampas extracelulares de neutrófilos y se acumulan tempranamente en el sitio de la formación de esquizontes. Las infecciones por *E. bovis* regulan una red molecular asociada con el movimiento de leucocitos y la respuesta inflamatoria (Matos et al., 2017). No obstante, la reacción es moderada al compararla con la que inducen otros protozoarios como *Toxoplasma gondii* o *Neospora caninum*, lo



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

cual podría ser debido a que el parásito posee un mecanismo que evita las reacciones celulares inmunes intensas. Se ha demostrado que *Eimeria* spp. disminuye la expresión del gene de la defensina  $\beta$ -2 de caprinos (GBD-2 por sus siglas en inglés) al inducir la producción de IL-4; lo cual nos permite suponer que contribuye a la patogénesis de las infecciones de *Eimeria* al disminuir la secreción de Interferón-gamma y por lo tanto la producción de GBD-2. Se han descrito también otros procesos de interacción de *Eimeria* con la célula huésped en el caso de *E. bovis*, resaltando la inhibición de la apoptosis (Alcala-Canto and Ibarra-Velarde, 2008), modulación del metabolismo celular, principalmente de las moléculas involucradas en la glucólisis, vía del ácido cítrico, degradación de alcohol y lípidos y sobrerregulación de moléculas involucradas en el metabolismo del colesterol, como la escualeno epoxidasa (Hamid et al., 2014).

### Cambios en la morfología y citoesqueleto de la célula hospedera

El desarrollo intracelular de los esporozoitos de *E. bovis* produce varios cambios en la morfología de la célula endotelial, principalmente caracterizadas por su notable alargamiento de hasta 40 veces su tamaño que es debido a la formación de macromerontes (Hermosilla et al., 2012). Se tienen pocos datos sobre los mecanismos moleculares a través de los cuales el parásito modula el citoesqueleto de la célula huésped. Sin embargo, se ha demostrado la sobrerregulación de genes que codifican para las proteínas responsables del ensamblaje de la actina y los microtúbulos. Asimismo, la regulación de las proteínas asociadas con la tubulina y miosina disminuye, lo que sugiere que ocurren diferentes mecanismos durante la formación del meronte inmaduro y maduro, con la subsecuente sobrerregulación de los elementos citoesqueléticos para el soporte estructural durante la formación del meronte y la disminución en la regulación durante la fase final de la merogonia, cuando los macromerontes se rompen para liberar los merozoitos (Hermosilla et al., 2015; Sühwold et al., 2010). Adicionalmente, la formación del macromeronte se acompaña de un cambio en la morfología del núcleo de la célula huésped. Poco después de la invasión, los esporozoitos se encuentran situados cerca del núcleo, lo cual indica una influencia directa sobre este organelo. En la fase temprana del desarrollo (4-7 días postinfección), el núcleo de la célula infectada muestra un contenido manchado que corresponde a la gran proporción e heterocromatina inactiva. Del día 8 en adelante, la morfología del núcleo cambia a un fenotipo parecido a un “huevo estrellado” con un nucléolo en crecimiento, lo que sugiere una síntesis proteica en incremento (Hermosilla et al., 2012).

### Control

Lo más importante para evitar problemas continuos con coccidiosis, el manejo del hato o rebaño debe ser muy cuidadoso, principalmente en lo que se refiere a la higiene, alimentación, oxigenación, densidad animal, tipo de suelo, etc. En los establos en los que se ha observado un incremento en los casos de coccidiosis, se detectó que el problema desapareció después de la reducción de la temperatura promedio por debajo de los 15°C y la humedad a un máximo de 80%. Esto se atribuyó a condiciones menos favorables para la esporulación de los ooquistes. Los pisos tipo rejilla que evitan la acumulación de heces en los corrales significativamente reducen los problemas relacionados con coccidias. Si las condiciones de bioseguridad no se llevan a cabo, entonces el tratamiento es prácticamente inevitable. Se han aplicado muchos compuestos con actividad anticoccidiana en los rumiantes. El principal blanco de los fármacos terapéuticos es el gamonte. La terapia se considera necesaria en el caso de un brote agudo; sin embargo, el ciclo de vida del parásito ya casi se ha completado y el daño intestinal se ha producido, por lo que la terapia es de



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

valor limitado. La aplicación paleativa de electrolitos, glucosa y anti-diarreicos puede ayudar a mantener la homeostasis y a evitar mortalidades. Para prevenir las pérdidas debidas a coccidiosis, los animales deben tratarse pro y metafílicamente en lugar de terapéuticamente (Mundt et al., 2005). Los fármacos diseñados para tal objetivo deben interrumpir la reproducción del parásito en un estadio temprano, es decir, la merogonia para poder prevenir la multiplicación y alteración mucosal subsecuente y de ese modo disminuir la presión de infección ambiental. Deben actuar de preferencia en los gamontes también porque no puede saberse con precisión en qué estadio se encuentra el desarrollo del parásito y posiblemente algunos animales ya se encuentren en el periodo de patencia cuando se inicia el tratamiento. Las sulfonamidas primariamente actúan en la generación asexual de la reproducción, es decir, en el periodo prepatente de la infección y son más o menos eficientes si se aplican lo más tempranamente posible (Mundt et al., 2005). Adicionalmente, las sulfonamidas se utilizan como fármacos terapéuticos aunque no ejercen suficiente actividad contra los gamontes. Estos fármacos también actúan contra algunas bacterias, por lo que pueden suprimir infecciones secundarias y al menos parcialmente explicar el beneficio del tratamiento de brotes de coccidiosis con sulfonamidas. Los compuestos de benceno acetonitrilo actúan contra varios estadios del ciclo de vida de *Eimeria* y son particularmente útiles para la metafilaxis. Una dosis única oral de 15 mg/kg de toltrazuril 12 días después de la infección experimental con *E. bovis* controla la enfermedad clínica y la excreción de ooquistes, y esta dosis demostró ser muy eficiente en un hato con brotes naturales de coccidiosis provocados por *E. zuernii* (Daughschies y Najdrowski, 2005). La administración de toltrazuril una semana antes del brote esperado de coccidiosis eficientemente controla la enfermedad (Mundt et al., 2005). El éxito de tal régimen de tratamiento requiere un análisis cuidadoso de la dinámica de coccidiosis en el área o granja. El diclazuril también se ha utilizado para controlar infecciones de coccidiosis en rumiantes. Asimismo, el amprolio se sigue utilizando en algunos países, y su blanco terapéutico son los merontes. Se caracteriza por tener baja toxicidad y puede aplicarse en el agua o por vía oral hasta por 4 ó 5 días consecutivos. El decoquinato se añade en el alimento y debe administrarse continuamente en un periodo de tiempo extendido debido a que actúa solamente contra los estadios tempranos del ciclo, es decir, los esporozoitos y trofozoitos. La monensina pertenece al grupo de los antibióticos ionóforos y se aplica como aditivo alimenticio durante periodos prolongados. La halofuginona se ha utilizado en aves y en el caso de bovinos, se indica para el tratamiento de criptosporidiosis en becerros lactantes. Con respecto a los desinfectantes comerciales, los únicos productos que han demostrado eficacia son los cresólicos que inactivan los ooquistes después de 2 horas de contacto. No obstante, se inactivan en presencia de materia orgánica. En el caso de las pasturas, deben drenarse y evitar que se acumulen los ooquistes infectantes. Asimismo, se ha demostrado que el uso de clinoptilolita, un aluminosilicato, afecta la morfología de los ooquistes esporulados y por lo tanto, podría reducir la probabilidad de que se infecten más hospederos (Alcala-Canto et al., 2011).

### Alternativas de control basadas en las interacciones hospedero-parásito

Considerando el tiempo y la correlación entre la magnitud de la respuesta del huésped y la severidad de la infección, se puede afirmar que los parásitos pueden inducir respuestas de fase aguda, muy probablemente de modo indirecto a través de perturbaciones tisulares mediadas por el parásito o producidas por un estrés oxidativo desproporcionado. Asimismo, el comportamiento mórbido con apetito disminuido o anorexia está mediado por las citocinas proinflamatorias. Con el objeto de disminuir estas respuestas exacerbadas, actualmente se han realizado estudios sobre la eficacia de polifenoles que tienen actividad inmunomoduladora. Se han documentado propiedades



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, antiprotozoarios y anticarcinogénicas para la planta turmérica *Curcuma longa* y el extracto de naringenina obtenido a partir de cáscaras de toronja (Alam et al., 2014; Ghosh et al., 2015). Recientemente, se demostró la actividad anti-*Eimeria* en ovinos e inmunomoduladora tanto de la *C. longa* como de un extracto de cáscaras de toronja (Cervantes-Valencia et al., 2016; Pérez-Fonseca et al., 2016).

Con respecto al estudio en el que se utilizó la *C. longa*, se llevaron a cabo experimentos en corderos criollos infectados con *Eimeria* spp., de 28 días de edad, con un peso promedio de 12 kg que fueron divididos en cinco grupos. Tres grupos recibieron 50 mg/kg PV, 100 mg/kg PV ó 200 mg/kg PV de *C. longa* preparada como una galleta con los curcuminoides previamente cuantificados (Figura 1). La cuantificación total de curcuminoides del polvo de *C. longa* se determinó cuantitativamente utilizando un método espectrofotométrico UV validado en un estudio previo (Sharma et al., 2012). Se preparó una solución estándar de 1µg/ml (10 mg del estándar de referencia en 10mL de metanol) para los espectros UV. La longitud de onda de absorbancia máxima fue determinada mediante espectrofotometría a 421 nm. Como estándar se utilizó uno que contenía 94% de curcuminoides > 80% curcumina (C7727 Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Posteriormente, se prepararon diferentes concentraciones de curcumina para evaluar linealidad, rango y precisión del método. La validación de este método se llevó a cabo de acuerdo con International Conference on Harmonization (2005). El coeficiente de variación fue < 2.0% y el coeficiente de correlación lineal fue de 0.9982, lo que sugiere un buen ajuste del modelo (Velázquez García, 2016). La estabilidad de la galleta se evaluó mediante el análisis del efecto de la temperatura y el tiempo de almacenaje, para garantizar que en el transcurso del tiempo los curcuminoides se mantienen estables en las condiciones de almacenamiento. El análisis se realizó después de 1, 20, 40 y 90 días de almacenamiento en refrigeración a 2 - 4 °C y protegidos de la luz. Se analizaron dos repeticiones de cada dosis, los resultados se compararon con la respuesta generada por una solución de curcuminoides preparada el día del análisis (Velázquez García, 2016). Este análisis se realizó mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (HPLC). Las galletas fueron administradas individualmente por vía oral durante 14 días con. En el estudio se incluyeron un grupo tratado con placebo y un grupo testigo no tratado. Las muestras de heces se obtuvieron cada tercer día para determinar la eficacia anticoccidiana. Además, los animales se pesaron el día cero y 42. Para evaluar la actividad inmunomoduladora de la curcumina se determinó la inducción de citocinas IL-10 e INF-γ mediante la prueba de ELISA, La peroxidación de lípidos y la generación de nitrito se determinó por medio del ensayo de malondialdehído en suero y la reacción de Griess respectivamente. Los resultados fueron sometidos a un análisis multivariado de varianza para observaciones repetidas. En los casos en los que la interacción tiempo-tratamiento fue significativa ( $p < 0.0001$ ), se condujo un análisis univariado de diseño de un solo factor aleatorizado en bloques completos para cada tiempo utilizando el ajuste de Bonferroni. La actividad anticoccidiana de la *C. longa* incrementó con el tiempo en los tres grupos tratados y alcanzó una eficacia del 100% en el día 42 (Cuadro 1). Los animales tratados con 200 mg/kg de *C. longa* incrementaron el doble del peso diario en comparación con los grupos no tratados. Los niveles de IL-10 fueron más altos en los animales tratados, mientras que la peroxidación lipídica y la generación de nitritos fueron significativamente más bajos. Los resultados mostraron que la administración de la curcumina puede reducir la producción de ooquistes, pérdida de peso, inflamación y los efectos relacionados con el estrés oxidativo y nitrosativo causado por infecciones por *Eimeria* spp. en corderos (Cervantes-Valencia et al., 2016).





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En el estudio *in vitro*, se presentó una mortalidad dosis-dependiente de 96.23% en los esporozoitos incubados durante 24 horas con 0.08 g de *C. longa*, en contraste con los no tratados. Las DL (dosis letal) DL<sub>50</sub>, DL<sub>90</sub> y DL<sub>99</sub> fueron de 0.018 g, 0.032 g y 0.051 g respectivamente. (Cervantes, 2016).

### Referencias bibliográficas

- Alam, M.A., Subhan, N., Rahman, M.M., Uddin, S.J., Reza, H.M., Sarker, S.D., 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Adv Nutr* 5, 404-417.
- Alcala-Canto, Y., Gutierrez-Olvera, L., Gutierrez-Olvera, C., Sumano-Lopez, H., 2011. Effects of clinoptilolite on *Eimeria* infection in sheep. *Small Rum. Res.* 100, 184– 188.
- Alcala-Canto, Y., Ibarra-Velarde, F., 2008. Cytokine gene expression and NF-kappaB activation following infection of intestinal epithelial cells with *Eimeria bovis* or *Eimeria alabamensis* in vitro. *Parasite Immunol* 30, 175-179.
- Bangoura, B., Mundt, H.C., Schmäschke, R., Westphal, B., Dauschies, A., 2012. Prevalence of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in German cattle herds and factors influencing oocyst excretion. *Parasitol Res* 110, 875-881.
- Cervantes-Valencia, M.E., Alcala-Canto, Y., Sumano-Lopez, H., Ducoing-Watty, A.M., Gutierrez-Olvera, L., 2016. Effects of *Curcuma longa* dietary inclusion against *Eimeria* spp. in naturally-infected lambs. *Small Ruminant Research* 136, 27-35.
- Dauschies, A., Najdrowski, M., 2005. Eimeriosis in cattle: current understanding. *J. Vet. Med.* 52, 417–427.
- Ghosh, S., Banerjee, S., Sil, P.C., 2015. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem Toxicol* 83, 111-124.
- Hamid, P.H., Hirzmann, J., Hermosilla, C., Taubert, A., 2014. Differential inhibition of host cell cholesterol de novo biosynthesis and processing abrogates *Eimeria bovis* intracellular development. *Parasitol Res* 113, 4165-4176.
- Hermosilla, C., Ruiz, A., Taubert, A., 2012. *Eimeria bovis*: an update on parasite-host cell interactions. *Int J Med Microbiol* 302, 210-215.
- Hermosilla, C., Stamm, I., Menge, C., Taubert, A., 2015. Suitable in vitro culture of *Eimeria bovis* meront II stages in bovine colonic epithelial cells and parasite-induced upregulation of CXCL10 and GM-CSF gene transcription. *Parasitol Res* 114, 3125-3136.
- Matos, L., Muñoz, M.C., Molina, J.M., Rodríguez, F., Perez, D., Lopez, A., Ferrer, O., Hermosilla, C., Taubert, A., Ruiz, A., 2017. Protective immune responses during prepatency in goat kids experimentally infected with *Eimeria ninakohlyakimovae*. *Vet Parasitol* 242, 1-9.
- Mundt, H.C., Bangoura, B., Rinke, M., Rosenbruch, M., Dauschies, A., 2005. Pathology and treatment of *Eimeria zuernii* coccidiosis in calves: investigations in an infection model. *Parasitol. Int.* 54, 223–230.
- Pérez-Fonseca, A., Alcala-Canto, Y., Salem, A.Z., Alberti-Navarro, A.B., 2016. Anticoccidial efficacy of naringenin and a grapefruit peel extract in growing lambs naturally-infected with *Eimeria* spp. *Vet Parasitol* 232, 58-65.
- Sühwold, A., Hermosilla, C., Seeger, T., Zahner, H., Taubert, A., 2010. T cell reactions of *Eimeria bovis* primary and challenge-infected calves. *Parasitol Res* 106, 595-605.
- Velázquez García, O., 2016. Cuantificación de curcuminas con actividad antiparasitaria en insumos de uso veterinario. Universidad Nacional Autónoma de México.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA

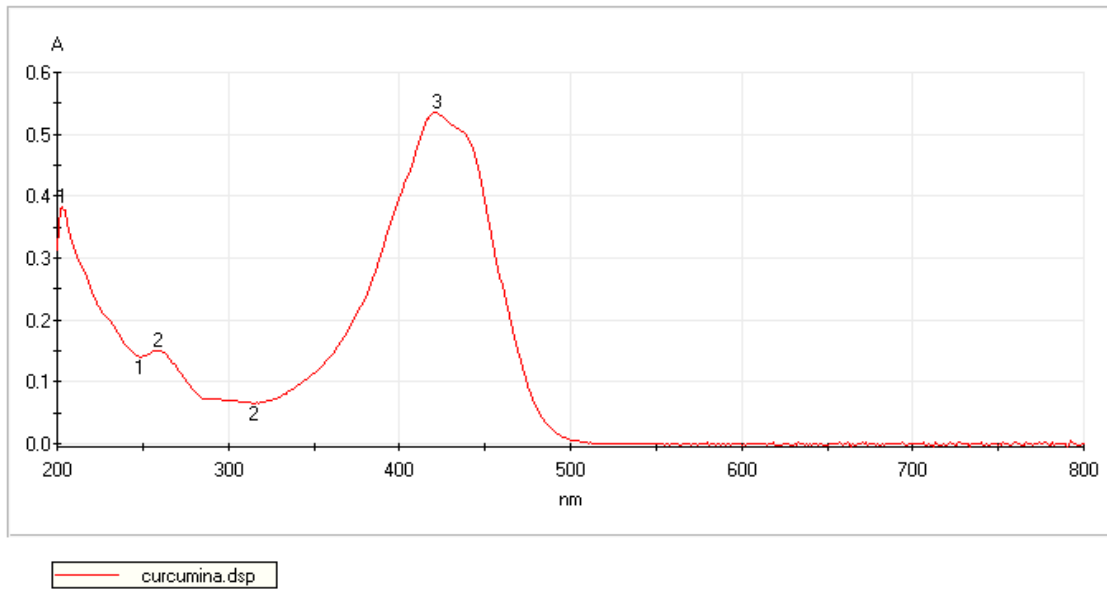


Figura 1. Espectro en el UV del estándar curcumina (200-800 nm).

**Cuadro 1.** Resultados de la comparación múltiple de la eliminación de ooquistes de *Eimeria* spp. Por gramo de heces (OPG) en 5 grupos de corderos que ingirieron la galleta con polvo de *Curcuma longa*.

Día del estudio	Grupos/medias y log del error estándar (x+1)									
	Testigo (T01)		Placebo (T02)		50 mg/kg <i>C. longa</i> (T03)		100 mg/kg <i>C. longa</i> (T04)		200 mg/kg <i>C. longa</i> (T05)	
7	7.4392 ± 0.1836	A	7.2440 ± 0.1836	AB	6.4566 ± 0.1836	ABC	6.2660 ± 0.1836	BC	6.6483 ± 0.1836	AB C
10	7.5998 ± 0.2442	A	7.4263 ± 0.2442	AB	6.2210 ± 0.2442	C	5.7644 ± 0.2442	C	6.3746 ± 0.2442	BC
14	7.7784 ± 0.6173	A	7.5988 ± 0.6173	A	4.1567 ± 0.6173	AB	4.1083 ± 0.6173	B	5.4463 ± 0.6173	B
18	7.9246 ± 0.8880	A	7.6883 ± 0.8880	A	2.8466 ± 0.8880	B	2.4097 ± 0.8880	B	3.9354 ± 0.8880	AB
21	8.7217 ± 0.6876	A	8.3791 ± 0.6876	A	0.9830 ± 0.6876	B	0.9830 ± 0.6876	B	1.9659 ± 0.6876	B
28	8.9972 ± 0.5291	A	8.7903 ± 0.5291	A	0 ± 0.5291	B	1.2543 ± 0.5291	B	1.3323 ± 0.5291	B
35	8.8745 ± 0.1536	A	8.5412 ± 0.1536	A	0 ± 0.1536	B	4.4409 ± 0.1536	B	4.4409 ± 0.1536	B
42	8.6015 ± 0.1780	A	8.1512 ± 0.1780	A	0 ± 0.1780	B	0 ± 0.1780	B	0 ± 0.1780	B

Letras diferentes indican diferencia significativa (p < 0.05).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ***Neospora caninum* EN MÉXICO: QUE SABEMOS Y A DONDE VAMOS** ***Neospora caninum* IN MEXICO: WHAT DO WE KNOW AND WERE DO WE GO**

Carlos Cruz-Vázquez.

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, Km. 18 carretera Aguascalientes - San Luis Potosí, El Llano, 20330, Aguascalientes, México.  
cruva18@yahoo.com.mx

### Introducción

*Neospora caninum* (Apicomplexa, Sarcocystidae), es un parásito protozoario de ciclo biológico heteroxeno que tiene como huésped definitivo al perro y otros cánidos, y como huésped intermediario a un extenso rango de especies que incluye tanto animales domésticos como silvestres (Dubey, et al., 2017). El parásito fue identificado por primera vez en Noruega en 1984, en un caso clínico con signos nerviosos en seis perros de la raza Boxer de entre 2 y 6 meses de edad, posteriormente estudios retrospectivos demostraron que el parásito ha sido endémico por lo menos desde 1957, ya que anteriormente se le confundía con *Toxoplasma gondii*; el parásito se identificó en 1988, en perros de los Estados Unidos de América (EUA), en donde se logró establecer en ratones y aislar en cultivo de células, denominándose *Neospora caninum*, diferenciándose completamente de *T. gondii*, y otros estudios confirmaron que el perro doméstico (*Canis familiaris*), es el huésped definitivo. Posteriormente, se ha encontrado que otros cánidos pueden ser también huéspedes naturales definitivos del parásito, tal es el caso de los coyotes, el dingo Australiano y el lobo gris (Dubey, et al., 2017). El ganado lechero es el huésped intermediario más afectado por *N. caninum*, en el cual puede provocar muerte fetal temprana, reabsorción embrionaria, muerte neonatal y abortos, principalmente en el segundo tercio de la gestación, afectando con ello los parámetros reproductivos, el programa de reemplazos de la empresa y la producción de leche; la infección se mantiene en el hato mediante transmisión vertical altamente eficiente así como por la ingestión de ooquistes provenientes del huésped definitivo (Dubey et al, 2017). La neosporosis bovina es reconocida como una de las principales causas de aborto en ganado lechero a nivel mundial, estimándose pérdidas anuales por 842.9 millones de dólares; en México se considera actualmente una de las principales enfermedades reproductivas que causa pérdidas por 68.5 y 94.8 millones de dólares anuales en la industria lechera y de la carne, respectivamente (Reichel et al., 2013).

### Antecedentes de la neosporosis en México

El primer antecedente de aborto bovino asociado a *N. caninum*, fue registrado en 1993, en un hato del noreste del país, sin embargo, el parásito fue confundido con *Hammondia pardale*; posteriormente, se tuvo un reporte basado en cuadro clínico, lesiones a la necropsia y a nivel histológico, de abortos que podrían asociarse a *N. caninum* en la cuenca lechera de la Comarca Lagunera; sin embargo, el primer caso documentado de aborto relacionado con *N. caninum* fue reportado por Morales et al (1997), en un feto de 5 meses de gestación de la raza Holstein cuya madre provenía de los EUA y que se encontraba en la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo A partir de ese hallazgo, la enfermedad se enlistó en la Ley Federal de Sanidad Animal, y actualmente se encuentra clasificada en el grupo tres, que "son aquellas enfermedades que se encuentran presentes



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

en territorio nacional consideradas como enzoóticas pero que representan un menor riesgo desde el punto de vista epidemiológico, económico, de salud pública y de comercio nacional e internacional, son de notificación mensual obligatoria a las autoridades competentes de sanidad animal del país”.

### Neosporosis en ganado bovino

A partir del 2001, se han publicado diversos estudios sobre la seroprevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en el ganado bovino de México, la mayoría utilizando una prueba comercial de ELISA. A la fecha, existen reportes de esta situación en las principales cuencas lecheras del país así como en regiones productoras de ganado de carne y doble propósito, que abarcan los estados de Coahuila, Durango, Chihuahua, Jalisco, Aguascalientes, Querétaro, Hidalgo, Estado de México, Nuevo León, Guanajuato, Puebla, Tamaulipas, Veracruz, Chiapas, Yucatán, Colima, Zacatecas y San Luis Potosí. Estos trabajos nos muestran que la seroprevalencia general en el ganado lechero se ubica históricamente entre 12% y 59%, siendo siempre mayor en vacas con antecedentes de aborto, en las cuales puede alcanzar hasta el 72%; la enfermedad se considera endémica en el hato lechero nacional, considerándose que la seroprevalencia general promedio se ubica en 35%, mientras que a nivel de hato, está en 78%, existiendo amplia variación entre regiones y entre establos lecheros mientras que la transmisión transplacentaria puede ser hasta del 95%, lo que permite la perpetuación de la infección en los hatos (Morales et al., 2001a; García-Vázquez et al, 2005; Rubio et al, 2012). Por otra parte, incluyendo animales de sistema intensivo de producción de leche, familiar y de doble propósito, se ha estimado la seroprevalencia en 44% (Milian et al, 2014). La presencia de quistes y de ADN del parásito en tejidos fetales alcanza hasta el 80% (Morales et al 2001b; Medina-Esparza et al., 2018). La diversidad genética del parásito ha sido explorada recientemente mediante el uso de secuencias de microsatélites, encontrando una amplia diversidad y la presencia incluso de dos genotipos diferentes dentro de un mismo hato de ganado lechero (Medina-Esparza et al., 2016). Los principales factores de riesgo asociados a la seropositividad y/o aborto, son los antecedentes de aborto y la presencia de perros y otras especies de animales domésticos en contacto con el ganado.

### Seroprevalencia en el huésped definitivo

La información sobre la seroprevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en perros domésticos en México es limitada, y sobre el coyote es inexistente, a pesar de que la presencia de este animal es abundante en el país. Diferentes estudios desarrollados en México, han determinado que en los establos en los que existen perros la seroprevalencia en el ganado es significativamente mas alta que en los que no los tienen (García-Vázquez et al., 2005; Sánchez et al., 2003). Se ha observado una seroprevalencia importante y mas elevada en perros que conviven con los hatos lecheros que en los que habitan en áreas urbanas, 51% y 20%, respectivamente para Tizayuca, Hgo., y la ciudad de México (Sánchez et al., 2003), y de 40.7% y 19.8%, respectivamente, para Aguascalientes (Cruz-Vázquez et al., 2008), esta información demuestra que los perros de establo tienen un mayor riesgo a infectarse con *N. caninum* al habitar en un medio con diversas potenciales fuentes de infección, sin embargo la prevalencia observada en los perros de áreas urbanas es también alta, lo que sugiere que los mismos están también expuestos a la infección (Cruz-Vázquez, et al., 2008); un estudio realizado en la ciudad de Durango con perros mascota, detectó una seroprevalencia de solo 1.9% (Dubey, et al., 2007).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Seroprevalencia en otras especies domésticas y silvestres

La presencia de anticuerpos anti-*N. caninum*, quistes tisulares y ADN del parásito, han sido identificados en ganado ovino, gallinas de traspatio, caballos, venado cola blanca, búfalos de agua, así como en pequeños roedores silvestres asociados a establos lecheros. La seroprevalencia de anticuerpos en estas especies no es tan frecuente e importante como en los bovinos, pero la identificación de animales positivos permite estimar que el parásito está presente en el ambiente y demuestra su capacidad para mantenerse en el mismo (Olalmendi et al, 2012; Medina-Esparza et al, 2013; Yeargan et al, 2013; Romo-Gallegos et al, 2019). El papel epidemiológico de estas especies es importante pues el perro y el coyote pueden alimentarse de ellos y de esta manera culminar el ciclo entérico para excretar ooquistes al ambiente que a su vez sean ingeridos por los huéspedes intermediarios (Dubey et al, 2017); las gallinas representan una alternativa para estimar la contaminación del suelo con ooquistes del parásito, en México se identificó una seroprevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en gallinas de traspatio de 18.5% (Martins et al, 2011).

### Perspectivas

Los estudios desarrollados y publicados en México a partir de 1997, permiten observar que la infección por *N. caninum* tanto en el huésped definitivo como en diversos huéspedes intermediarios se encuentra ampliamente distribuida. Sin duda, la neosporosis bovina es la más importante y por ello la más documentada; a la fecha, la infección se considera endémica, mostrando una seroprevalencia elevada, lo que debe de significar importantes repercusiones en el desempeño productivo de las vacas. Debido a que hasta la fecha no existe tratamiento o vacuna efectiva, áreas en las que debe de trabajarse, es importante realizar más investigación sobre su epidemiología de tal forma que se cuente con elementos confiables para diseñar programas de prevención enfocados a limitar su impacto en la salud y productividad de los hatos ganaderos. En México, no se cuenta con ningún aislamiento del parásito, lo que podría auxiliar en diferentes ámbitos científicos, aunado a ello, hasta donde es de mi conocimiento, ningún laboratorio de diagnóstico o investigación nacional cuenta con un cultivo in vitro del parásito, por lo que las pruebas serológicas disponibles en el país para diagnóstico de anticuerpos anti-*N. caninum* (ELISA e IFI), son de manufactura extranjera y sujetos a la normatividad de importación vigente así como a las restricciones de ingreso al país en situaciones de emergencia sanitaria, lo que nos deja en una total dependencia tecnológica en esta área, por lo que es recomendable trabajar en este sentido, es decir, mantener cultivo in vitro del parásito y preparar paquetes diagnósticos de IFI y ELISA en el país. Es también importante el diagnóstico del parásito en los fetos abortados, ya que la confirmación de la presencia del parásito en los tejidos fetales es la prueba contundente de ser la causa de la pérdida fetal, para ello es necesario que los Médico Veterinarios y los ganaderos inviertan en un diagnóstico certero a través de pruebas de histopatología, inmunohistoquímica y de detección de ADN en tejidos, además de contar con hatos libres de brucelosis y bajo esquemas de vacunación de las otras enfermedades abortivas así como mejorar los programas de salud reproductiva y las medidas de bioseguridad en los establos lecheros.

Los siguientes puntos pueden ser observados para limitar la infección y sus repercusiones en los hatos ganaderos, los mismos, toman en cuenta lo propuesto por McAllister (2016), pero se han hecho algunas adiciones, estos son: 1) Es necesario reconocer que *N. caninum* es un parásito muy eficiente para mantenerse en el ambiente y que los principales mecanismos de transmisión incluyen la ingestión de ooquistes excretados por el huésped definitivo, principalmente el perro



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

doméstico y el coyote, así como la transmisión transplacentaria de la madre infectada al feto; un animal con infección crónica está igualmente expuesto a sufrir una infección aguda por ingestión de ooquistes, que es la que generalmente provoca el aborto. 2) Las buenas prácticas de manejo y bioseguridad pueden ayudar a controlar la neosporosis en los hatos, pero la erradicación es usualmente impráctica; el diagnóstico serológico en las vacas clínicamente sanas así como en las abortadas debe de definirse en base a títulos de anticuerpos y en los fetos por pruebas de HP, IHQ y PCR. 3) En el largo plazo, la clave para evitar o reducir la alta prevalencia de la infección es proteger la ración integral y el agua de bebida de la contaminación por heces de perros y coyotes; cada unidad de producción debe de decidir cómo realizar esta protección de acuerdo a su situación particular. 4) La presencia y la cantidad de perros en los establecimientos ganaderos representan sin duda un factor de riesgo a la infección, tanto para los mismos perros como para el ganado, de tal forma que es recomendable restringir a los mismos el contacto con el ganado y particularmente con los fetos abortados y desechos placentarios para evitar su ingesta; no es recomendable tener cachorros en el predio ya que son más susceptibles a la infección. La eliminación de los perros no implica la posibilidad de que el ganado no se encuentre en riesgo a infectarse de forma horizontal pues los ooquistes pueden provenir de coyotes o perros ajenos a la unidad ganadera; hay que evitar el ingreso de perros vagabundos y coyotes a las instalaciones. Finalmente, es recomendable contar con un programa de control de roedores, lo cual suma beneficios a la unidad productiva.

### Referencias bibliográficas

- Cruz-Vázquez C, Medina-Esparza L, Marentes A, Morales-Salinas E, García-Vázquez Z. 2008. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.* 57: 139-143.
- Dubey J.P., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., Schares, G. 2017. *Neosporosis in animals*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Dubey JP, Alvarado EC, Liensfeld O, Herrera FRG, Ramírez BE, et al.. 2007. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from Durango city, Mexico. *J. Parasitol.* 93: 1033-1035.
- García-Vázquez Z, Rosario CR, Ramos AA, Cruz-Vázquez C, Mapes SG. 2005. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. *Vet. Parasitol.* 134: 61-65.
- Martins J, Kwok OCH, Dubey JP. 2011. Seroprevalence of *Neospora caninum* in free-range chickens (*Gallus domesticus*) from the Americas. *Vet. Parasitol.* 182: 349-351.
- McAllister, M. 2016. Diagnosis and control of bovine neosporosis. *Vet. Clin. Food Anim.* 32:443-463.
- Medina-Esparza L, Macías L, Ramos-Parra M, Morales-Salinas E, Quezada T., Cruz-Vázquez C. 2013. Frequency of infection by *Neospora caninum* in wild rodents associated with dairy farms in Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.* 191: 11-14.
- Medina-Esparza L, De Luna OR, Cruz-Vázquez C, Vitela-Mendoza I. 2018. Detección de *Neospora caninum* en ganado lechero sacrificado en Aguascalientes, México. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 9: 408-419.
- Milian SF, Hernández AL, Hernández OR, Alvarado IA, Díaz AE, García OMA, Ramos AJA, Preciado de la Torre JF, Barradas PF, Mejía EF, Palomares RG, de la Peña MA. 2014. Prevalencia de enfermedades reproductivas en la ganadería lechera de México. *Memorias del XXXVIII Congreso Nacional de Buiatría.* p.184.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Morales SE, Ramírez LJ, Trigo TF, et al. 1997. Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora* sp en México. *Vet. Mex.* 28: 353-357.
- Morales E, Trigo TF, Ibarra F, Puente E, Santacruz M. 2001a. Seroprevalence study of bovine Neosporosis in México. *J. Vet. Diag. Invest.* 13: 413-415.
- Morales E, Trigo JF, Ibarra F, Puente E, Santacruz M. 2001b. Neosporosis in Mexican dairy herds: Lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in foetus. *J. Comp. Path.* 125: 58-63.
- Olalmendi-Portugal, M, Caballero OH, Correa D, Sánchez AM., Cruz-Vázquez C., Medina EL, Ortega JA, Cantu A, García VZ. 2012. Serosurvey of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in white-tailed deer from northern Mexico. *Vet. Parasitol.* 189: 369-373.
- Reichel MP, Ayanegui-Alcérreca A, Gondim LFP, Ellis J. 2013. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – The billion dollar question. *Int. J. Parasitol.* 43: 133-142.
- Romo-Gallegos, JM, Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M, Romero-Salas D. 2019. Prevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection in ovine flocks of central-western Mexico. *Acta Vet. Hungarica.* 67: 51-59.
- Rubio VY, García CL, Pizano MO, Nava, VA, Cantó AG, Milián SF. 2012. Prevalencia y distribución de las parasitosis de los bovinos en México: trabajos publicados entre 2005 y 2011. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría.* p. 249.
- Sánchez SF, Morales E, Martínez JM, Trigo TJF. 2003. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Can. J. Vet. Res.* 32: 142-145.
- Yeargan MR, Alvarado-Esquivel C, Dubey JP, Howe DK. 2013. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses from Mexico. *Parasite.* 20:29.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## AVANCES EN EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA PROTOZOARIOS EN RUMIANTES ADVANCES IN THE DEVELOPMENT OF PROTOZOAN VACCINES IN RUMIANTS

Figuroa MJV\*, Lira AJJ, Santamaría ERM, Álvarez MJA, Rojas MC.

CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No.8534,  
Jiutepec, Morelos, México. CP 62550  
figuroa.julio@inifap.gob.mx

Palabras clave: Vacunas, Protozoarios, Rumiantes

### Resumen

Los métodos más comúnmente empleados para el control de las principales enfermedades de los rumiantes causada por protozoarios, son la quimioterapia y, en los casos de protozoarios transmitidos por artrópodos, el uso de ixodicidas para el control de los vectores. Sin embargo, la inmunización y el desarrollo de nuevas alternativas que propongan métodos prácticos de vacunación para la prevención de las enfermedades parasitarias, son los grandes avances en materia de inmunogenicidad y bioseguridad a través del uso de la biotecnología moderna. Con estas herramientas ha sido posible desarrollar modelos nuevos de vacunas con características innovadoras que contribuyan al mejoramiento de la eficiencia en la producción ganadera en el mundo.

### Introducción

La inmunidad es la forma de resistencia que presenta un organismo animal para defenderse del ataque de los microorganismos. Esta forma de resistencia puede ser natural o adquirida después de la sensibilización del sistema inmunológico con el agente causal de una enfermedad vivo modificado (atenuado, por ejemplo) o muerto. La inmunoprofilaxis o vacunación es el método más antiguo utilizado para la prevención de múltiples enfermedades, *la importancia para el ganado* y para cualquier otra especie radica en el tipo de respuesta inmunológica (prolongada y específica) generada por *las vacunas*. Las investigaciones realizadas sobre métodos inmunoprolácticos en los últimos años para prevenir al ganado de la acción patógena de las enfermedades, infieren que la vacunación como método de prevención y control, es un método eficaz, económico y confiable (Merino *et al.*, 2013).

La ganadería bovina en México representa una de las principales actividades económicas del sector agropecuario, siendo los sistemas intensivo y extensivo los que predominan en el desarrollo de esta práctica. Sin embargo, las enfermedades infecciosas entre ellas la causadas por protozoarios, representan una de las limitantes para el desarrollo de la producción ganadera. Las pérdidas económicas como consecuencia de las enfermedades en el ganado bovino pueden ir desde la disminución en la producción de carne y leche, baja fertilidad en las hembras (aborto) y machos, altos costos durante el tratamiento de los animales enfermos y finalmente también pérdidas directas cuando las tasas de mortalidad son altas. A nivel mundial, los protozoarios son agentes causales de múltiples enfermedades en los rumiantes, entre los que destacan *Neospora caninum*, parásito protozoario de los animales que se ha encontrado afectando de forma natural a perros, bovinos y





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

ovinos, así como a otras especies tales como el venado cola blanca y el búfalo de agua; sin embargo, el rango de especies en las cuales se ha demostrado su presencia es muy amplio, e incluye tanto animales domésticos como silvestres (Dubey *et al.*, 2007). Fue identificado por primera vez en 1988, en perros de los Estados Unidos de América (EUA), en donde fue establecido en ratones y posteriormente aislado en cultivo de células (Dubey *et al.*, 1988). En el ganado bovino *N. caninum* es considerado como una de las principales causas de abortos en muchos países, las pérdidas económicas por este parásito rondan los 842.9 millones de dólares anuales (Dubey, 2003; Reichel *et al.*, 2013; Ojeda *et al.*, 2016). En algunos casos, la variación antigénica durante los diferentes estadios que participan en complejos ciclos de vida y el alto polimorfismo de los organismos, son las principales limitaciones para el desarrollo de vacunas antiparasitarias efectivas. Tal es el caso de las vacunas contra *N. caninum*, en donde hasta el momento no existe una vacuna comercial disponible que sea eficaz y segura (Monney *et al.*, 2011). Sin embargo, debido a la importancia económica de la neosporosis y los antecedentes de otras vacunas vivas contra protozoarios ha llevado a los investigadores a invertir en el desarrollo de medidas para prevenir la infección en el ganado por medio de la vacunación. Diferentes antígenos han sido probados como candidatos vacunales, por ejemplo, cepas vivas atenuadas, lisados de taquizoitos muertos y algunos antígenos recombinantes, principalmente antígenos que participan en la adhesión e invasión de los parásitos a las células de los hospederos (Monney *et al.*, 2011; Hecker *et al.*, 2012). Actualmente, en México no existen vacunas comerciales que reduzcan los índices de abortos a causa de la neosporosis bovina, la única vacuna comercial (Neoguard®, Intervet) que había disponible formulada con lisado de taquizoitos, fue retirada del mercado por su baja eficiencia.

La babesiosis bovina es una enfermedad transmitida por garrapatas y también es causada por protozoarios, las especies de mayor importancia son *Babesia divergens*, *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, las dos últimas distribuidas en el mundo, especialmente en países con clima tropical y subtropical (Bock *et al.*, 2004). Además del ganado bovino, otra especie de rumiantes como los ovinos también son susceptibles a la infección por protozoarios del género *Babesia*, siendo *Babesia ovis* y *Babesia motasi* los agentes etiológicos de la babesiosis ovina (Uilenberg *et al.*, 1980; Ranjbar-Bahadori *et al.*, 2012). Cuando ocurre la enfermedad, los primeros signos clínicos aparecen después del periodo de incubación de 8-14 días (Vial and Gorenflot, 2006). La infección puede tener un curso benigno con recuperación espontánea o bien progresar y producir una condición debilitante y fatal (Solorio y Rodríguez, 1997). Los principales signos clínicos son fiebre, anemia, hemoglobinuria, ictericia, debilidad, apatía, anorexia, deshidratación y aborto en ocasiones (Bock *et al.*, 2004). Se ha descrito que existen variaciones según la especie de *Babesia* involucrada, las asociadas a *B. bovis* son más virulentas y se caracterizan por fiebre alta, ataxia, anorexia, shock circulatorio general y signos nerviosos, estos últimos debido al secuestro de eritrocitos infectados en los capilares cerebrales. En los casos de infección por *B. bigemina* se manifiesta fiebre, hemoglobinuria y anemia, pero no tiene lugar el secuestro de eritrocitos (Mosqueda *et al.*, 2012).

La inmunización de bovinos con eritrocitos infectados por *B. bovis* y *B. bigemina* derivados del cultivo *in vitro* (vacuna viva atenuada) es uno de los métodos que han sido empleados para el control de la babesiosis bovina en México (Cantó *et al.*, 2003). En Australia desde hace 53 años (1964) la vacuna que contiene cepas atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale* cultivadas en terneros esplenectomizados, ha sido utilizada para inmunizar el ganado contra la fiebre de las garrapatas (Bock and and de Vos, 2001). Al año, aproximadamente 800,000 dosis de la vacuna australiana (Trivalent tick fever vaccine) son suministradas, demostrando que una inoculación única



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

generalmente proporciona una protección sólida y duradera (Bock and de Vos, 2001). En un estudio realizado recientemente, la administración de la vacuna mixta mexicana generó una respuesta inmune protectora en animales vacunados, pero fue incapaz de evitar los signos clínicos temporales causados por las cepas virulentas durante la confrontación natural bajo condiciones extremas (Bautista *et al.*, 2012). Las reacciones moderadas en los animales vacunados que requieran tratamiento y la posible transmisión de agentes adventicios en la sangre inoculada son dos de las principales problemáticas que se podrían presentar al utilizar poblaciones de hemoparásitos vivas como agentes inmunizantes (Cantó *et al.*, 2003).

Existen referencias del empleo de vacunas vivas contra otros protozoos. La vacuna contra *Toxoplasma gondii* (Toxovax®, Intervet) elaborada a partir de taquizoítos vivos de la cepa S48, atenuados luego de sucesivos pasajes en ratones. Esta vacuna presenta una elevada eficacia y un adecuado nivel de protección contra el aborto en ovinos durante 18 meses (Buxton and Innes, 1995; Meeusen *et al.*, 2007). *Toxoplasma gondii* es la causa de la enfermedad zoonótica por protozoarios con mayor prevalencia a nivel mundial, siendo felinos domésticos y silvestres los hospederos definitivos, mientras que el humano y otros mamíferos incluyendo bovinos, ovinos y caprinos participan como hospederos intermediarios. En los rumiantes, la transmisión ocurre por la ingestión de alimentos y agua contaminados con heces de gatos que contienen los ooquistes, el aborto ocurre después de la infección del feto por vía transplacentaria (Acha y Szyfres, 1986; Dubey, 2010). La besnoitiosis bovina (*Besnoitia besnoiti*) también denominada elefantiasis o piel de elefante es una enfermedad de curso crónico y debilitante. Aunque muchos animales pueden permanecer asintomáticos, la gravedad es variable, ocasionando una pérdida de condición corporal, esterilidad en los toros, y la muerte de los animales enfermos en casos aislados. Debido a las pérdidas económicas que ocasiona esta enfermedad, en algunos países de Europa como España, Portugal, Francia, Alemania, Italia, Suiza, Hungría y Croacia es considerada una enfermedad emergente, y caracterizada principalmente por los problemas reproductivos en hembras y machos (Rostaher *et al.*, 2010).

Otras de las especies de protozoarios que ponen en riesgo la producción bovina son *Eimeria* spp. (coccidiosis bovina) causante de múltiples cuadros clínicos de diarrea en los rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos) y *Tritrichomonas foetus* (tricomonosis genital bovina) protozooario flagelado asociado con infertilidad y abortos bovinos en diferentes países del mundo (Rodríguez *et al.*, 2001; Mendoza *et al.*, 2012), y existe una vacuna contra la tricomonosis genital (TrichGuard®-Boehringer Ingelheim) (Meeusen *et al.*, 2007) y la teileriasis bovina (Singh *et al.*, 2014). La teileriasis bovina causada por las especies de mayor importancia *Theileria annulata* y *Theileria parva* es una enfermedad recurrente en Europa y África, su distribución se encuentra limitada a la presencia de su garrapata vector (Mans *et al.*, 2015). La fiebre de la costa del este causada por *T. parva* genera alta mortalidad en el ganado (90-100%), y es frecuente en todo el este, central y sur de África que incluye países como Burundi, Kenya, Uganda, Tanzania, Rwanda, Malawi, Mozambique, Zambia, Zimbawe y la República Democrática del Congo (Quiroz, 1984; Gachohi *et al.*, 2012).

### Avances en el desarrollo de vacunas contra protozoarios

Los avances en materia de biotecnología moderna han permitido el diseño de nuevas vacunas que parecen brindar protección al ganado contra las enfermedades causadas por protozoarios (Cuadro 1). El desarrollo de estas nuevas estrategias apuesta por vacunas más seguras y capaces de



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

desencadenar una respuesta inmune eficaz y prolongada, en comparación con las vacunas vivas. Dentro de este tipo de vacunas se incluyen las vacunas de ADN recombinante y los preparados de subunidades antigénicas, cuya ventaja principal es que no existe el riesgo de desencadenar la enfermedad después de la vacunación. Por ejemplo, debido a la baja eficacia de la vacuna comercial para prevenir la neosporosis en bovinos, un gran número de antígenos, como proteínas de superficie y del complejo apical del parásito, han sido probados de manera experimental en los últimos 5 años como inmunógenos (Hecker *et al.*, 2012).

El avance en el estudio de vacunas inactivadas y de nueva generación (recombinantes y subunidades) es uno de los grandes logros para la inmunología veterinaria moderna; sin embargo, es necesario continuar con las investigaciones para tratar de mejorar su eficacia. Por lo tanto, teniendo en cuenta las vacunas disponibles contra la babesiosis bovina, es factible continuar desarrollando vacunas vivas para generar protección contra otras especies de protozoarios.

Cuadro 1. Avances en las vacunas veterinarias para protozoarios y su disponibilidad comercial

Patógeno	Disponibilidad comercial	Distribuidor	Tipo de vacuna	Especie
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxovax® Cepa S48	Intervet	Viva atenuada (taquizoítos)	Ovinos
	No disponible	No disponible	ADN recombinante (antígenos de bradizoítos)	Ovinos
<i>Neospora caninum</i>	Neoguard®	Intervet	Inactivada (taquizoítos)	Bovinos
	No disponible	No disponible	Recombinante (antígenos de las micronemas)	Bovinos
<i>Theileria annulata</i>	Rakshavac-T	Instituto veterinario local (India)	Viva atenuada (cultivo celular)	Bovinos
<i>Tritrichomonas foetus</i>	Trichguard®	Boehringer Ingelheim	Inactivada	Bovinos
<i>Babesia bovis</i> y <i>B. bigemina</i>	Vacuna bivalente contra la babesiosis bovina	Instituto veterinario local (México)	Viva atenuada (cultivo celular)	Bovinos
	Vacuna trivalente contra la fiebre de las garrapatas	Instituto veterinario local (Australia)	Viva atenuada (pases sucesivos en becerros)	Bovinos
<i>Trypanosoma evansi</i>	No disponible	No disponible	Recombinante (antígeno Beta- tubulina STIB806)	Bovinos

(Adaptado de Meeusen *et al.*, 2007; Hecker *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2014; Gong *et al.*, 2016).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Acha PN, Szyfrez B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud, Segunda edición Publicación Científica No. 53. 1986; 646-658.
- Bautista GCR, Castañeda AR, Álvarez MJA, Rojas MC, Figueroa MJV, Rodríguez LA. La vacunación simultánea de bovinos con *Lactobacillus casei* y la vacuna bivalente contra babesiosis bovina genera mejor protección contra *Babesia bovis* y *B. bigemina* transmitidas por garrapatas en condiciones extremas de campo. *Vet Méx.* 2012; 43: 189-200.
- Bock RE, de Vos AJ. Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. *Aust Vet J.* 2001; 79: 832–839.
- Bock R, Jackson L, de Vos A, Jorgensen W. Babesiosis of cattle. *Parasitol.* 2004; 129: 247–269.
- Buxton D, Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitol.* 1995; 110: 11-16.
- Cantó AGJ, Álvarez MJA, Rojas REE, Ramos AJA, Mosqueda GJJ, Vega MCA, Figueroa MJV. Protección contra babesiosis bovina con una vacuna mixta de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* derivada de cultivo in vitro bajo una confrontación de campo. Inmunización en un área libre de la enfermedad. *Vet Méx.* 2003; 34(4): 323-332.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. A newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Assoc.* 1988; 192: 1269-1285.
- Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol.* 2003; 41(1): 1-16.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microb Rev.* 2007; 20: 323-367.
- Dubey JP. *Toxoplasmosis of Animal and Humans. Second Edition.* CRC Press. 2010. Boca Ratón. FL. USA.
- Gachohi J, Skilton R, Hansen F, Ngumi P, Kitala P. Epidemiology of East Coast fever (*Theileria parva* infection) in Kenya: past, present and the future. *Parasit Vectors.* 2012; 5(194): 1-13.
- Gong P, Cao L, Guo Y, Dong H, Yuan S, Yao X, Ren W, Yao L, Xu Z, Sun Q, Zhang X. *Toxoplasma gondii*: Protective immunity induced by a DNA vaccine expressing GRA1 and MIC3 against toxoplasmosis in BALB/c mice. *Exp Parasitol.* 2016; 166: 131-136.
- Hecker YP, Venturini MC, Campero CM, Odeón AC, Moore DP. Avances en el desarrollo de vacunas contra la neosporosis bovina. *Rev Argent Microbiol.* 2012; 44: 216-230.
- Mans BJ, Pienaar R, Latif AA. A review of *Theileria* diagnosis and epidemiology. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2015; 4(1): 104-118.
- Mendoza IJA, Pedraza DS, García PFJ, Rojo MS, Ruiz-Santa QJA, San Miguel IE, Navarro LV, Ortega MLM, Osoro K, Collantes FE. High prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in Asturiana de la Montaña beef cattle kept in extensive conditions in Northern Spain. *Vet J.* 2012; 193(1): 146-151.
- Merino O, Alberdi P, Pérez LJM, de la Fuente J. Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; 3(30): 1-10.
- Meeunsen ENT, Walker J, Peters A, Pastoret PP, Jungersen G. Current status of veterinary vaccines. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(3): 489-510.
- Monney T, Debache K, Hemphill. Review vaccines against a major cause of abortion in cattle, *Neospora caninum* infection. *Animals.* 2011; 1: 306-325.
- Mosqueda J, Olvera RA, Aguilar TG, Cantó GJ. Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Curr Med Chem.* 2012; 19(10):1504-1518.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Ojeda CJJ, Espinosa AE, Hernández GPA, Rojas MC, Álvarez MJA. Seroprevalencia de enfermedades que afectan la reproducción de bovinos para leche con énfasis en neosporosis. *Eco Rec Agro*. 2016; 3(8): 243-249.
- Quiroz RH. Theileriasis en bovinos. En: *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. 1ª Ed. Editorial Limusa, México. 1984; 205-208.
- Ranjbar BS, Eckert B, Omidian Z, Shirazi NS, Shayan P. *Babesia ovis* as the main causative agent of sheep babesiosis in Iran. *Parasitol Res*. 2012; 110(4): 1531-1536.
- Reichel MP, Ayanegui-Alcérreca A, Gondim LFP, Ellis J. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle-The billion-dollar question? *Int J Parasitol*. 2013; 43: 133-142.
- Rodríguez VRI, Cob GLA, Domínguez AJL. 2001. Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev Biomed*. 2001; 12: 19-25.
- Rostaher A, Mueller RS, Majzoub M, Schares G, Gollnick NS. Bovine besnoitiosis in Germany. *Vet Dermatol*. 2010; 21: 329-334.
- Singh AK, Verma AK, Neha-Tiwari R, Karthik K, Dhana K, Singh SV. Trends and advances in vaccines against protozoan parasites of veterinary importance: a review. *J Biol Sci*. 2014; 14(2): 95-109.
- Solorio RJL, Rodríguez VRI. Epidemiología de la babesiosis bovina. II. Indicadores epidemiológicos y elementos para el diseño de estrategias de control. *Rev Biomed*. 1997; 8(2): 95-105.
- Uilenberg G, Rombach MC, Perié NM, Zwart D. Blood parasites of sheep in the Netherlands. II. *Babesia motasi* (*Sporozoa, Babesiidae*). *Tijdschr Diergeneesk*. 1980; 105(2): 3-14.
- Vial HJ, Gorenflot A. Chemotherapy against babesiosis. *Vet Parasitol*. 2006; 138: 147-160.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## TRABAJOS LIBRES SECCIÓN I. PROTOZOARIOS

### DETECCIÓN DE *Babesia* spp EN PEQUEÑOS RUMIANTES EN CULIACÁN, SINALOA DETECTION OF *Babesia* spp. IN SMALL RUMINANTS IN CULIACÁN, SINALOA

Beltrán VLG<sup>\*1</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>, Borbolla IJE<sup>1</sup>, Quintero OI<sup>1</sup>, Castro del CN<sup>1</sup>, Solís CJD, Barraza TCL,  
Olimón AV<sup>2</sup>, Rodríguez GMA<sup>1</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Autónoma de Sinaloa.

<sup>2</sup>Facultad de Biología- Universidad Autónoma de Sinaloa.

soilagaxiola@uas.edu.mx

Palabras clave: ovinos, caprinos, *Babesia* spp.

#### Introducción

Los ovinos y caprinos son mamíferos rumiantes de importancia económica a través de productos que de ellos derivan como carne, leche, lana y piel, en México son fuente de trabajo para familias campesinas, otros beneficios de su explotación es la mejora los pastos, contribuyen al control de malezas, fertilidad, pueden tener más de una cría por parto y se adaptan a condiciones geográficas y climáticas adversas. En México la ovinocultura superó los 8.9 mill de ton de cabezas y la caprinocultura 8.7 mill de ton de cabezas, con una producción de ganado en pie de 119 mil de ton de ovinos y 77 mil ton de caprinos (SIAP, 2018), la producción de carne de canal fue alrededor de 61,606 y 39,777 ton para ovinos y caprinos respectivamente, para el Estado de Sinaloa la producción fue de 8,072 ton de ovinos y 7,151 ton de caprinos, en el municipio de Culiacán se tenían registradas alrededor de 28, 260 cabezas de ovinos y 13, 750 cabezas de caprinos clasificados en vientres, crías, sementales, triponas y engorda (SINIIGA, 2018). No obstante con el incremento de la producción los animales suelen ser susceptibles a enfermedades ocasionadas por parásitos, ectoparásitos y hemoparásitos, dentro de estos últimos tenemos *Babesia* spp, un género de parásitos protozoarios del grupo de *Apicomplexa* de la familia *piroplasmida* que causa babesiosis, enfermedad cuyo vector de transmisión es la garrapata del género *Ixodidae* con distribución en regiones tropicales, subtropicales y países con clima templado. La infección por *Babesia* spp ha sido reportado en distintos países como causantes de un gran impacto económico y de salud en los pequeños rumiantes. La alta morbilidad y mortalidad de la babesiosis hacen que estos agentes sean responsables de altas pérdidas económicas en la industria ganadera de alrededor de 48 mil millones de dólares al año en el mundo y en México se pierden 3, 587 mill de pesos al año (Meléndez, 1998). Se ha detectado la presencia de *Babesia* en diferentes partes del mundo infectando a ovinos y caprinos. En estudios realizados en el Noroeste de Irán por Esmaeilnejad *et al.* (2015) observaron *B. spp* en 42 (10%) /402 muestras de ovinos y caprinos, en el Oeste de Irán Naderi *et al.* (2017) identificaron *Babesia* spp en 47 /384 (12.22%) en muestras de sangre de ovinos y caprinos, en Turquía se identificaron las especies de *Babesia ovís* (3.5 %), *Babesia sp.* (2%) en un estudio realizado por Ozubek y Aktas (2017). Estudios previos realizados en el Municipio de Culiacan han reportado la presencia de parásitos hemáticos en pequeños rumiantes (Gaxiola *et al.*, 2006) estos



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

comparten un cuadro clínico similar y vector de transmisión que el hemoparásito de *Babesia*, así mismo Gaxiola *et al.* (1996) reportaron la detección de formas similares a *Babesia* spp en ovinos y caprinos en Culiacán. Por los antecedentes mencionados el objetivo del presente estudio fue la identificación morfológica de *Babesia* spp en ovinos y caprinos en Culiacán, Sinaloa.

### Objetivo general

Detectar morfológicamente *Babesia* spp en ovinos y caprinos en Culiacán, Sinaloa.

### Materiales y métodos

#### Área de estudio

El presente estudio se realizó en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México; geográficamente ubicado entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 50' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1 800 m, temperatura media anual de 18°C - 26°C, precipitación de 400-1200 mm, clima seco muy cálido y cálido (37.40%), semiseco muy cálido y cálido (31.96%), cálido subhúmedo con lluvias en verano (INEGI., 2017). Y se incluyeron 3 ranchos cooperantes ubicados en esta zona: Ejido San Manuel con las coordenadas geográficas: 24.357222 latitud y -107.380556 longitud, Aguaruto con las coordenadas geográficas: 24.7885 latitud y 107.4861 longitud y El Campo las Ilusiones con las coordenadas geográficas 24.7187 latitud y -107.5413 longitud.

#### Tipo de estudio

El presente estudio es observacional, descriptivo y transversal.

#### Tamaño de la muestra

Se obtuvieron 51 muestras de sangre, 39 muestras corresponden a ovinos y 12 a caprinos, en el cuadro 1 se presenta el total de acuerdo a la especie y sexo.

**Cuadro 1.** Número de muestras por especie y sexo.

Especie	Numero de muestras		Total
	Hembras	Machos	
Ovinos	29	10	39
Caprinos	10	2	12
Total	33	13	51

#### Recolección de muestras sanguíneas

Las muestras sanguíneas se extrajeron en tubos Tubos BD Vacutainer® con EDTA de la vena yugular de ovinos y caprino; posteriormente se almacenaron a temperatura no mayor a 4° y se enviaron al laboratorio de la Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAS, Culiacán.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Análisis de laboratorio

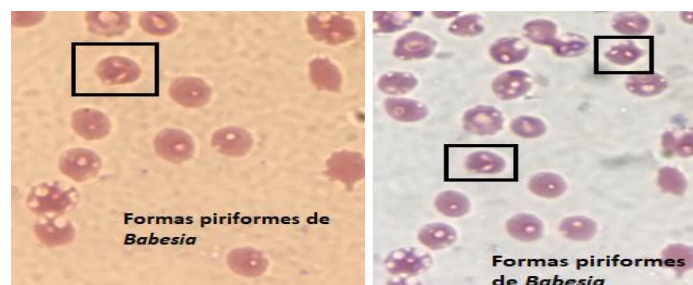
Se realizaron los frotis sanguíneos, donde a un porta objetos se le agregó una gota de sangre y se extendió a lo largo del cristal, con ayuda de otro porta objetos. Asegurando un extendido delgado se realizaron dos extendidos a cada muestra. Posteriormente, se tiñeron por 7 min por la técnica de tinción de Wright (Koneman, 2012). Se enjuagó con agua normal, por último se secó y se analizó en el microscopio óptico Carl Zeiss con el objetivo de 100x a doble ciego.

## Resultados y discusión

Los resultados se presentan en el cuadro 2. El parásito de *Babesia* spp se observó en 19 muestras, correspondiendo 13 ovinos y 6 caprinos, de acuerdo de mayor a menor incidencia, en ovinos se observó en el Ejido San Manuel 5/10 (50%), en el Campo las Ilusiones 8/20 (40%), así mismo en caprinos en el sitio de Aguaruto 6/10 (60%) fueron positivas y 4 negativas, no se detectó el protozooario en las muestras de ovinos. Para la identificación morfológica del parásito dentro del eritrocito (figura 1) que puede ser de forma ameboidea o piriforme se utilizó la descripción por Del campillo (2009).

Cuadro 2. Total de muestras positivos a *Babesia* spp por sitio y especie.

Nombre del sitio	Ovinos	Caprinos	Ovinos Positivos	Caprinos Positivos	Ovinos Negativos	Caprinos Negativos
Ejido San Manuel	10	-	5	-	5	-
Campo las Ilusiones	20	2	8	0	12	2
Aguaruto	9	10	0	6	9	4



**Figura 1.** Eritrocitos parasitados por *Babesia* de ovinos y caprinos del presente estudio, observadas al microscopio óptico.

El hecho de haber identificado el parásito de *Babesia* en ovinos y caprinos puede ser debido a que el municipio de Culiacán cuenta con las condiciones climáticas adecuadas es decir la temperatura y la humedad óptimas para el desarrollo de la garrapata (Anderson y Magnarelli., 2008) y se ha identificado plenamente la presencia de los vectores que lo transmiten (Gaxiola *et al.*, 1999). Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con el estudio de Naderi *et al.* (2017) donde observaron el parásito de *Babesia* en 38 ovinos y 9 caprinos y Esmaeilnejad *et al.* (2015) observaron





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

el parásito en 42/402 muestras de pequeños rumiantes en Irán, quienes también detectaron la presencia de *Babesia* en ovinos y caprinos por microscopía. De los 3 sitios muestreados se encontró mayor incidencia en el Ejido San Manuel con el 50% de las muestras positivas parásito esto puede ser debido al tipo de explotación, sistemas de alimentación y manejo de los animales.

### Conclusiones

En conclusión, el municipio de Culiacán, es un área de producción y cría de ovinos y caprinos, y la detección de enfermedades de los mismos es de gran importancia, en particular la infección parasitaria de la sangre. En el presente estudio, se confirma la presencia morfológica de *Babesia* en ovinos y caprinos.

### Referencias bibliográficas

- Anderson J. F., Magnarelli L. A. Biology of ticks. Infect Dis Clin North Am. 2008 Jun;22(2):195-215, v. doi: 10.1016/j.idc.2007.12.006.
- Esmailnejad B., Tavassoli M., Asri-Rezaei S., Dalir-Naghadeh B., Mardani K., Jalilzadeh-Amin G., Golabi M. & Arjmand J. 2014. PCR-Based Detection of *Babesia ovis* in *Rhipicephalus bursa* and Small Ruminants. J Parasitol Res 2014. 294704. DOI: 10.1155/2014/294704.
- Gaxiola C.S.M., Quintero M.M.T., Borbolla I.J.E. 1996. Hemoparásitos en pequeñas especies. Memorias del curso, diagnóstico y control de enfermedades parasitarias de los animales domésticos 10-13 de julio 1996, Culiacán, Sinaloa.
- Gaxiola C.S.M., Quintero M.M.T., Borbolla I.J.E. 1999. Infestación natural de bovinos con *Boophilus microplus* en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México". IV Seminario Internacional de Parasitología Animal sobre Control de la Resistencia en Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria y Enfermedades que transmiten. Celebrado en octubre de 1999 en Puerto Vallarta, Jalisco, México.
- Gaxiola C.S.M., Borbolla I.J.E., Castro del C.N., Cárcamo A.N.M., Sosa G.C., Meza T.M., Barraza T.C., Rodríguez G.M.A. 2006. Frecuencia de presentación de *Anaplasma* spp en ovinos en pastoreo en el municipio de Culiacán, Sinaloa.
- Meléndez R. 1998. Revisión integral de los factores epidemiológicos que inciden en la relación *Boophilus microplus* – bovino – *Babesia* spp. Rev. Científ. FCV-LUZ. VIII (1): 25 – 34.
- Naderi A., Nayebzadeh H., & Gholami S. 2017. Detection of *Babesia* infection among human, goats and sheep using microscopic and molecular methods in the city of Kuhdasht in Lorestan Province, West of Iran. J Parasit Dis 41: 837-842. DOI: 10.1007/s12639-017-0899-1.
- Ozubek S., Aktas M. 2017. Molecular evidence of a new *Babesia* sp. in goats. Vet Parasitol 233, 1-8. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.11.016.
- SIAP. 2018. Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP). Atlas agroalimentario 2012-2018. Primera edición 2018. www.siap.gob.mx
- SINIIGA. 2018. Estadísticas de ovinos y caprinos en Sinaloa. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**ENCUESTA MOLECULAR PARA DETECTAR *Babesia microti* EN ROEDORES SILVESTRES DE LOS ESTADOS DE MÉXICO, GUERRERO Y MICHOACÁN, MÉXICO.**

**MOLECULAR SURVEY TO DETECT *Babesia microti* IN WILD RODENTS FROM THE STATES OF MEXICO, GUERRERO AND MICHOACÁN, MÉXICO**

Cabrera CI<sup>a</sup>, Gordillo PMG<sup>b</sup>, Aguilar FB<sup>a</sup>, Bautista Garfias CR<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación Manuel Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Santo Tomás Del. Miguel Hidalgo, Ciudad de México, C.P. 11340, Prolongación Manuel Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Santo Tomás Del. Miguel Hidalgo, Ciudad de México, C.P. 11340

<sup>b</sup>Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

<sup>c</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Km 11 Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla, No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, CP 62550, México \_foto.dibujo@gmail.com

## Resumen

La principal causa de babesiosis humana (zoonosis emergente) en el continente americano es *Babesia microti*. En el ciclo de vida del parásito intervienen roedores silvestres y garrapatas duras del género Ixodes. En México no existe información publicada sobre la presencia de *B. microti* en roedores silvestres, fuente de infección en humanos, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar la presencia del parásito en roedores silvestres, provenientes de parques naturales de los estados de México, Guerrero y Michoacán, mediante la amplificación por PCR punto final del gen 18S rRNA. Se llevó a cabo un estudio transversal descriptivo, para lo cual se obtuvieron DNA's de hígado, oreja o corazón de roedores silvestres del banco de DNA's y Tejidos del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas Emergentes (IMSS). De estas muestras se amplificó el gen 18S rRNA de *B. microti*, utilizando la cepa tipo Grey del parásito como testigo positivo, y se llevó a cabo una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de los productos de PCR para luego realizar la purificación y secuenciación del producto para comparar con las secuencias del Gen Bank. Las muestras amplificadas mostraron un 99% de similitud para *B. microti*. En cuanto a los porcentajes de positividad por estado para *B. microti*, de 190 DNA's examinados, fueron 16.9% (14/84) del Estado de México; 16.6% (12/71) de Guerrero y 8.6% (3/35) de Michoacán. Los porcentajes por especie de los 21 roedores positivos, fueron: 28.6% *P. megalops*, 23.8% *Peromyscus* sp., 14.3% *P. maniculatus*, 9.5% *P. beatae*, 4.8% *Mus musculus* y 14.3% *Megadontomys* sp. Se concluye que *B. microti* está presente en roedores silvestres del género *Peromyscus* que habitan en parques naturales en tres estados de la República Mexicana por lo que existe el riesgo de que la población humana de esas áreas esté expuesta a la infección por dicho patógeno.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE *Eimeria* PRESENTES EN CABRAS (*Capra hircus*) EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN

### IDENTIFICATION OF *Eimeria* SPECIES PRESENT IN GOATS (*Capra hircus*) IN THE NUEVO LEÓN STATE

Cantú MMA\*<sup>1</sup>, González SIS<sup>2</sup>, Zarate RJJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
Departamento de Parasitología.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Parasitología.  
macantum@hotmail.com

Palabra claves: *Eimeria*, Ooquistes, Cabras.

#### Introducción

Los sistemas de producción caprina en el noroeste de México consisten esencialmente en sistemas extensivos y semiextensivos con explotaciones pequeñas debido a que son regiones semiáridas, estos representan un recurso importante para algunos estratos sociales donde el común denominador de este sector pecuario es la escasa o nula tecnificación aplicada en los procesos productivos, aumentando el riesgo a enfermedades infección debido al hacinamiento, el exceso de humedad y la acumulación de excremento en el corral, constituyendo un problema serio, y creando las condiciones ambientales favorables para el desarrollo del parásito.

Las enfermedades parasitarias causan grandes pérdidas económicas por disminuir la producción animal en general, y predisponen a los animales a enfermedades secundarias, llegando a causar la muerte en porcentajes elevados en los animales jóvenes y estresados. Siendo la eimeriosis una de las enfermedades gastrointestinales con mayor importancia económica en el ganado caprino (Zhang et al., 2013).

La eimeriosis repercute seriamente en la productividad y la salud de los animal, sin embargo, no todas las especies de *Eimeria* poseen el mismo grado de patogenicidad, ya que algunas especies son más agresivas con el hospedero que otras (Das et al., 2012). Debido a esto, en diferentes países del mundo se han identificado a las especies de *Eimeria* en caprinos, y en México existen pocos estudios y en el estado de Nuevo León no existen trabajos en los que se muestre la diversidad de las especies de *Eimeria* presentes.

#### Metodología

Se recolectaron 403 muestras fecales directamente del recto de los animales mediante un muestreo aleatorio provenientes de 70 hatos de 13 municipios del estado de Nuevo León, México (García, Iturbide, Aramberri, General Bravo, Marín, Galeana, Linares, Ramones, Pesquería, General Zuazua, Vallecillo, Cadereyta Jiménez y Mina), las muestras se transportaron a la Laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León: las heces se colocaron en cajas de Petri maceradas y con dicromato de potasio



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

( $K_2Cr_2O_7$ ) al 2.5% y se incubaron a 23-28 °C, diariamente se monitorearon, hasta que el 70% de los ooquistes fueron esporulados.

Los ooquistes se recuperaron mediante la técnica de flotación por sulfato de Zinc al 33% y con solución saturada de azúcar descrita por Sheather (1923) modificada por D. W. Duszynski and P. G. Wilber (1997),

Las observaciones Morfológicas y las medidas de los ooquistes esporulados de *Eimerias* se examinaron utilizando un microscopio binocular Carl Zeiss Axioscop con una cámara Axio Cam HRc y con el objetivo de 40X y 100X. y utilizando la metodología descrita por Berto et al. (2014).

Para la identificación de las diferentes especies de *Eimeria* en los caprinos se manejaron las descripciones originales y tipologías descritas de los ooquistes por Cordero del Campillo et al. (1999), Taylor et al. (2007).

Los histogramas fueron preparados para representar gráficamente los valores observados de diámetro mayor del ooquiste (DM), diámetro menor del ooquiste (dm) e índice morfométrico del ooquiste (IM) con sus respectivas frecuencias (Berto, 2010). Tanto los histogramas como las regresiones lineales se realizaron con el software Microsoft<sup>®</sup> Excel<sup>®</sup> 2011 para Mac Versión 14.4.6. de acuerdo con Sampaio (2002).

### Resultados y discusión

De los 403 animales muestreados en los municipios de García, Iturbide, Aramberri, General Bravo, Marín, Galeana, Linares, Ramones, Pesquería, General Zuazua, Vallecillo, Cadereyta Jiménez y Mina; del estado de Nuevo León, México; solamente 243 (60.29%) de los animales fueron positivos a la presencia de ooquistes de *Eimeria*. Estos resultados de frecuencias fueron similares a los encontrados por Borgsteede and Dercksen (1996), en cabras adultas de Europa, sin embargo comparado con estudios de frecuencia realizados en otros países de América y en algunos estados de México, la frecuencia de eimeriosis obtenida en el presente estudio fue menor, esto seguramente está asociado al sistema de pastoreo, ya que esta práctica se ha visto relacionada a una baja en la frecuencia de eimeriosis, puesto que los animales muestreados estaban sujetos a un pastoreo extensivo, haciendo más difícil la reinfección (Cai & Bai, 2009).

Los resultados de los análisis morfológico y morfométrico determinaron la presencia de 8 especies de *Eimerias* que están circulando en los diferentes municipios el estado: *E. alijeivi*, *E. ninakohlyakimovae*, *E. arloingi*, *E. christenseni*, *E. jolchijevi*, *E. apsheronica*, *E. caprina*, *E. caprovina*, así mismo se caracterizó una nueva especie que se le denominó arbitrariamente como *Eimeria nl* sp. ya que las características morfológicas y morfométricas no corresponden a las descripciones antes publicadas, para las especies de *Eimeria* en caprinos; (ver tabla 1). Los municipios con el mayor número de especies fueron Pesquería, Cadereyta Jiménez y Mina donde se encontraron las 9 especies registradas, seguidos de Iturbide, General Bravo, Zuazua y con 8 especies, posteriormente García, Galeana y Ramones con 7 especies, en Marín y Vallecillo se encontraron 5



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

especies, en Linares 2 y por último en el municipio de Aramberri se encontró solo 1 especie. Cabe mencionar que con frecuencia se encontraron múltiples especies parasitando a un solo hospedero.

Municipio	Nº de muestras	Positivas	%	<i>Eimeria nl. sp.</i>	<i>Eimeria Arloingi tipo 1</i>	<i>Eimeria arloingi, tipo 2</i>	<i>Eimeria jolchijevi</i>	<i>Eimeria alijevi</i>	<i>Eimeria ninakohlyakimovae</i>	<i>Eimeria christenseni</i>	<i>Eimeria apsheronica</i>	<i>Eimeria caprina</i>	<i>Eimeria caprovina</i>
García	32	11	34.4	*	1	3	1	*	2	1	1	1	1
Iturbide	40	35	87.5	*	11	1	2	5	3	1	2	5	3
Aramberri	29	1	3.4	*	*	*	*	*	*	1	*	*	*
General Bravo	42	31	73.8	*	4	2	3	3	1	3	2	2	3
Marín	41	24	58.5	*	11	6	4	6	6	5	*	*	2
Galeana	20	16	80.0	*	6	3	5	6	4	9	5	5	3
Linares	27	9	33.3	*	1	1	*	*	*	*	*	1	*
Ramones	20	20	100.0	4	14	5	9	5	*	5	*	1	3
Pesquería	30	30	100.0	9	21	10	3	5	7	17	2	2	6
Zuazua	33	10	30.3	1	2	1	3	1	1	*	3	2	2
Vallecillo	22	6	27.3	*	3	1	2	1	*	1	*	1	*
Cadereyta Jiménez	30	17	56.7	1	5	3	1	5	2	4	1	2	1
Mina	37	33	89.2	8	20	5	7	9	7	12	5	1	12
Total	403	243	60.29	23	99	41	40	46	33	59	21	23	36
Prevalencias %				5.71	24.57	10.17	9.39	11.41	8.19	14.64	5.21	5.71	8.93

Tabla 1. Porcentaje de positividad por municipio y prevalencia de especies. \* Especie ausente en el municipio.

Los resultados de Torres Acosta et al. (1995) en el estudio que realizó en cabras del estado de Yucatán, la especie más frecuente fue *E. ninakohlyakimovae*, mientras que en el presente trabajo se encontró que la especie más frecuente fue *E. arloingi*. Los resultados del presente estudio se reportan una alta frecuencia de *E. arloingi* y *E. christenseni* y esta frecuencia es similar a las encontradas en Inglaterra por Norton en 1986, así mismo, otras investigaciones realizadas por O'Callaghan, 1989, en Australia, y Asia por Faizal & Rajapakse, 2001, reportan como en el presente estudio a *E. apsheronica* como la especie menos frecuente.

### Conclusión

De acuerdo al análisis de los resultados obtenidos la frecuencia de Eimeriosis en el Estado de Nuevo León es del 60.29% así mismo se encontraron cabras infectadas en todos los municipios muestreados. Se caracterizaron morfológica y morfométricamente 8 especies que corresponden a *E. alijevi*, *E. ninakohlyakimovae*, *E. arloingi*, *E. christenseni*, *E. jolchijevi*, *E. apsheronica*, *E. caprina*, *E. caprovina*, de las cuales, las especies más prevalentes en el estado fueron *E. arloingi* y *E. christenseni*. La especie menos prevalente es *E. apsheronica*.

Basados en las descripciones morfológicas y morfométricas de las diferentes especies de *Eimeria* en caprinos, se caracterizó una nueva especie para la ciencia *Eimeria nl. sp.* La mayoría de las especies reportadas son altamente polimórficas en sus dimensiones, por lo que el presente estudio es de vital relevancia para la identificación morfológica de las especies de *Eimeria* en caprinos en el Estado de Nuevo León.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Berto B. P. (2010). *Morfología e sistemática de coccidios (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) parasitas de aves passeriformes da ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil.*, Univerisidad Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Berto B. P., McIntosh D., & Lopes C. W. (2014). Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Rev Bras Parasitol Vet*, 23(1), 1-15. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24728354>.
- Borgsteede F. H., & Dercksen D. P. (1996). Coccidial and helminth infections in goats kept indoors in the Netherlands. *Vet Parasitol*, 61(3-4), 321-326. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8720569>.
- Cai K. Z., & Bai J. L. (2009). Infection intensity of gastrointestinal nematodosis and coccidiosis of sheep raised under three types of feeding and management regimes in Ningxia Hui Autonomous Region, China. *Small Rumin. Res.*, 85, 111–115.
- Cordero del Campillo M., Rojo Vázquez F. A., Martínez Fernández A. R., Sánchez Acedo C., Hernández Rodríguez S., Navarrete López Cozar I. Carvalho Varela M. (1999). *Parasitología Veterinaria* (1º ed.). España: McGraw-Hill Interamericana.
- Das G., Atasoglu C., Akbag H. I., Tolu C., Yurtman I. Y., & Savas T. (2012). Effects of kefir on coccidial oocysts excretion and performance of dairy goat kids following weaning. *Trop Anim Health Prod*, 44(5), 1049-1055. doi:10.1007/s11250-011-0039-3
- Faizal A. C., & Rajapakse R. P. (2001). Prevalence of coccidia and gastrointestinal nematode infections in cross bred goats in the dry areas of Sri Lanka. *Small Rumin Res*, 40(3), 233-238. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11323207>
- Norton C. C. (1986). Coccidia of the domestic goat *Capra hircus*, with notes on *Eimeria ovinoidalis* and *E. bakuensis* (syn. *E. ovina*) from the sheep *Ovis aries*. *Parasitology*, 92 ( Pt 2), 279-289. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3714300>
- O'Callaghan M. G. (1989). Coccidia of domestic and feral goats in South Australia. *Vet Parasitol*, 30(4), 267-272. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2728316>
- Sampaio I. (2002). *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte FEPMVZ.
- Taylor M. A., Coop R. L., & Wall R. L. (2007). *Veterinary Parasitology* (Third Edition ed.): Wiley-Blackwell.
- Torres Acosta J. F., Rodríguez Vivas R. I., & Camara Sarmiento R. (1995). Efecto del parto sobre la eliminación de huevecillos de nemátodos y ooquistes de *Eimeria* en cabras criollas. *Rev Biomed*, 6, 208-215.
- Zhang W., Wang R., Yang F., Zhang L., Cao J., Zhang X., Shen Y. (2013). Distribution and genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp. in pre- weaned dairy calves in Northeastern China's Heilongjiang Province. *PLoS One*, 8(1), e54857. doi:10.1371/journal.pone.0054857



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ***Neospora caninum* EN PERROS DE ÁREAS RURALES DEL ESTADO DE AGUASCALIENTES, MÉXICO**

### ***Neospora caninum* IN DOGS OF RURAL AREAS IN AGUASCALIENTES STATE, MEXICO**

De Velasco RI\*<sup>a</sup>, Cruz VC<sup>a</sup>, Medina EL<sup>a</sup>, Vitela MI<sup>a</sup>, Ángel SC<sup>b</sup>, Gómez LJ<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, Tecnológico Nacional de México.

<sup>b</sup> División Ciencias de la vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

<sup>c</sup> Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Tecnológico Nacional de México.

isa\_dvr@yahoo.com.mx

Palabras clave. *Neospora caninum*, perros, seroprevalencia, excreción de ooquistes-like

#### Introducción

*Neospora caninum* es un parásito protozoario intracelular del phylum apicomplexa causante de la enfermedad conocida como neosporosis, la cual provoca desórdenes neuromusculares en perros y aborto en ganado bovino (Dubey y Schares 2011). El perro es considerado como el principal huésped definitivo (McAllister et al. 1998), mientras que diferentes animales domésticos y silvestres pueden actuar como hospederos intermediarios (Guido et al. 2016). El carnivorismo es la primera ruta de infección en los perros, al consumir abortos y tejidos placentarios de animales infectados con el parásito, desarrollan una fase de infección entérica donde el perro elimina en las heces ooquistes sin esporular, que al estar en el medio ambiente esporulan contaminando agua y alimento que consume el ganado que de esta manera adquiere la infección (Dubey y Schares 2011). Varios estudios han reportado la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en perros, observando que la prevalencia tiende a ser mayor en perros domiciliados en establos que en perros que viven en áreas urbanas (Dubey y Schares 2011); en Aguascalientes, se ha reportado el 40% de seroprevalencia en perros que viven en estrecho contacto con ganado lechero (Cruz-Vázquez et al. 2008), sin embargo se desconoce dicha condición en perros de áreas rurales así como acerca de la identificación de casos con eliminación de ooquistes en heces.

#### Objetivos

Identificar la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* y la frecuencia de ooquistes-like del parásito en perros de áreas rurales del estado de Aguascalientes, México.

#### Materiales y métodos

El estudio se desarrolló en el estado de Aguascalientes, el cual se encuentra en la región centro-norte del país. Se incluyeron en el trabajo 32 perros que habitaban en comunidades rurales de siete municipios del estado; se consideraron como criterios de inclusión: que deambularán libremente por la comunidad, que convivieran con otras especies animales, y que los propietarios permitieran el muestreo. Se aplicó una encuesta a los propietarios, registrando el sexo, la edad (determinada por la dentición), el tipo racial y hábitos alimenticios de los perros. A cada uno de los perros se les tomo



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

una muestra de sangre de la vena cefálica con jeringa estéril que fue colocada en un tubo vacutainer nuevo sin anticoagulante para obtener el suero y posteriormente ser procesado por la técnica serológica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), usando laminillas sensibilizadas con taquizoitos de la cepa Nc-1, un conjugado anti-IgG de canino marcada con fluoresceína, así como controles positivo y negativo, siguiendo las instrucciones del fabricante (VMRD, Inc.); la muestra se consideró positiva al observar fluorescencia en todo el contorno del parásito a un título de 1:50. Se tomó una muestra de heces directamente del recto en cada uno de los mismos perros, las cuales fueron transportadas a 4°C para ser procesadas por la técnica coproparasitológica de flotación con solución salina saturada para detectar ooquistes-like de *N. caninum*, por su tamaño entre 11 y 14 µm; posteriormente se realizó la extracción de ADN con el paquete comercial QIAamp DNA Stool mini kit (Qiagen Laboratories), siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante, una vez extraído el ADN, todas las muestras fueron sometidas a la técnica de PCR utilizando los iniciadores Np6 y Np21 (Yamage et al. 1996). Los productos de la amplificación se resolvieron en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, usando un marcador de peso molecular de 100pb así como controles positivo y negativo; la muestra fue considerada positiva si se observaba un producto de amplificación de 328 pb. Los resultados obtenidos fueron analizados por epidemiología descriptiva, calculando la seroprevalencia considerando los atributos de la población incluida en el estudio.

### Resultados y discusión

La seroprevalencia general de anticuerpos anti-*N. caninum* fue de 62% (20/32; 95% I.C. 45-77), en los machos fue de 61% (11/18) y en las hembras 64% (9/14). La seroprevalencia por edad, en perros menores de un año fue de 20% (1/5), entre 1 y 6 años de 75% (15/20) y en perros mayores de 6 años 57% (4/7); el tipo racial considerado como de perros de cruce de varias razas tuvo una seroprevalencia de 57% (15/26) en tanto que en los de raza pura, 83% (5/6). La encuesta reveló que los hábitos alimenticios eran variados, el 87% de los propietarios señalaron que los perros obtenían su alimento de la cacería de algunas pequeñas aves o roedores, reportando que también consumían desechos placentarios, en el caso de aquellos que conviven con el ganado, el 13% restante (4/32), mencionaron que proporcionan restos de comida casera y en ocasiones leche. En cuanto al resultado del examen coprológico, la frecuencia en la detección de ooquistes-like de *N. caninum* fue en solo 4 muestras y se contabilizaron de 2-4 ooquistes-like por gramo de heces, obteniendo una prevalencia de 12% (4/32; 95% I.C. 4-28); mientras que en la técnica de PCR ninguna de las muestras de heces amplificó el fragmento deseado.

Los perros juegan un rol importante como hospedero definitivo y eventualmente intermediario en el ciclo de *N. caninum*, siendo elemento clave en la epidemiología de la enfermedad. La seroprevalencia en perros que conviven con ganado lechero en México ha sido reportada por Sánchez et al. (2003) y Cruz-Vázquez et al. (2008), misma que ha sido del 51 y 40%, respectivamente; en el presente estudio, se identificó 62% de seroprevalencia, dato que consideramos elevado e indicativo de la amplia presencia del parásito en las zonas rurales, los perros conviven con el ganado lechero y otras especies domésticas y silvestres que actúan como hospederos intermediarios y por sus hábitos de carnivorismo asegura el mantenimiento de la infección (McAllister et al., 1998; Dubey y Schares 2011). A pesar de que la seroprevalencia reportada en perros a nivel global es considerada alta, los estudios realizados sobre la prevalencia en la excreción de ooquistes de *N. caninum* en perros con infección natural es baja (Dubey y Schares,





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

2011). Se han estudiado perros de establo en los cuales no fue posible detectar ooquistes de *N. caninum* en heces (Paradies et al. 2017), aunque la prevalencia de ooquistes-like de *N. caninum* en perros de áreas rurales y que conviven con ganado, varía entre 5.1% (Mitrea et al., 2013) y 2.6% (Qian et al., 2016), siendo mayor la identificada en el presente estudio (12%). Para la detección de ADN en heces se usaron iniciadores específicos, pero en todas las muestras procesadas no fue posible amplificar el fragmento deseado; resultados similares reportaron Regidor-Cerrillo et al. (2010), donde se observaron ooquistes-like *N. caninum* pero el número de ooquistes fue muy bajo (5 ooquistes por 1-2 gramo de heces) por lo que no pudo ser confirmado por PCR, caso similar al observado en nuestro estudio, donde la cantidad de ooquistes-like de *N. caninum* fue muy baja y eso no permitió su diagnóstico molecular. Qian et al. (2016), reportan dos muestras de heces positivas a ooquistes-like de *N. caninum* y siete por PCR de 78 muestras analizadas, interesante, que solo una de ellas resultó positiva tanto por microscopía como por PCR, estos resultados confirman la presencia de ADN del parásito en las heces, sin embargo la eliminación de ooquistes en las heces es de forma irregular en el huésped definitivo (Dubey y Schares, 2011), por lo tanto la detección directa de ooquistes se dificulta y el número de ooquistes encontrados en perros con infección natural es muy bajo, por lo que algunas veces es indetectable por PCR (Regidor-Cerrillo et al. 2010) o por microscopía (Paradies et al. 2017).

### Conclusiones

*N. caninum* está presente en perros de áreas rurales del estado de Aguascalientes, ya que fue posible identificar la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en un alto porcentaje, lo que indica que el perro estuvo en contacto con el parásito; la detección de ooquistes-like de *N. caninum* puede indicar la presencia de una infección activa, sin embargo, en el presente estudio no fue posible identificar ADN del parásito para confirmarlo.

### Implicaciones

Este estudio permitió detectar animales seropositivos a *N. caninum*, lo que contribuye a comprender la situación epidemiológica de los perros que viven en áreas rurales, considerando que, en la misma zona es alta la prevalencia de la neosporosis bovina, por lo tanto, si los perros conviven o se encuentran en estrecho contacto con ganado u otras especies animales favorece a la perpetuación de la enfermedad.

Agradecimientos y/o fuente financiadora.

Proyecto financiado por Tecnológico Nacional de México (5068.19-P).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Marentes, A., Morales-Salinas, E., García-Vázquez, Z. 2008. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Veterinary Parasitology*. 157, 139-143.
- Dubey, J.P., Schares G. 2011. Neosporosis in animals-the last five years. *Veterinary Parasitology*. 180, 90-108.
- Guido, S., Katzer, F., Nanjiani, I., Milne, E., Innes, E. 2016. Serology- based diagnostic for the control of bovine neosporosis. *Trends in Parasitology*. 32, 131-143.
- Mitreă, IL., Enăchescu, V., Lonita, M. 2013. *Neospora caninum* Infection in dogs from southern Romania: Coproparasitological study and serological follow-up. *Journal of Parasitology*. 99, 365-367.
- McAllister, MM., Dubey, JP., Lindsay, DS., Jolley, WR., Wills, RA., McGuire, AM. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 28, 1473–1478.
- Paradies, P., Capelli G., Testini G., Cantacessi C., Trees J., Otranto D. 2007. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. *Veterinary Parasitology*. 145, 240-244.
- Qian, W., Wang, T., Yan, W. 2016. Occurrence and first multilocus microsatellite genotyping of *Neospora caninum* from naturally infected dogs in dairy farms in Henan, Central China. *Parasitology Research*. 115, 3267-3273.
- Regidor-Cerrillo, J., Pedraza Díaz S., Rojo-Montejo, S., Vazquez-Moreno, E., Arnaiz, I., Gomez-Bautista, M., Jimenez-Palacios, S., Ortega-Mora, L., Collantes-Fernandez, E. 2010. *Neospora caninum* infection in stray and farm dogs: Seroepidemiological study and oocyst shedding. *Veterinary Parasitology*. 174, 332-335.
- Sánchez, G.F., Morales, S.E., Martínez, M.J. and Trigo, F.J. 2003. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 67, 142-145.
- Yamage, M., Flechtner, O., Gottstein, B. 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain “cyst” DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Parasitology*. 82, 272-279.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CLASIFICACIÓN MORFOMÉTRICA Y FRECUENCIA DE *Eimeria* spp. EN CORDEROS DEL ALTIPLANO Y SU RELACIÓN CON HEMATOCRITO Y PROTEINA PLASMÁTICA

## MORPHOMETRIC CLASSIFICATION AND FREQUENCY OF *Eimeria* spp. IN LAMBS FROM ALTIPLANO AND ITS RELATIONSHIP WITH HEMATOCRIT AND PLASMA PROTEIN

Díaz GLH\*, Vazquez VLE, Muro RA, Alcalá CY, Campos RG, Alonso HML, Blancas MM

Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Autónoma de Zacatecas.  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Nacional Autónoma de México.  
hum\_diaz73@yahoo.com.mx

Palabras clave: Morfometría, Coccidias, Prevalencia.

### Introducción

Una de las enfermedades más importantes en ovinos causada por parásitos internos (eimerias) es la coccidiosis que afecta a corderos de 3 a 8 semanas de edad y hasta después de ser destetados, incluso en la etapa de engorda (Müller y Hemphill, 2013). Originalmente se pensaba que las especies de Eimerias que afectan a ovinos y caprinos, eran las mismas; sin embargo, algunos estudios han mostrado que las especies son específicas y que además no son causa de zoonosis (Taylor, 2012). Esta enfermedad es de impacto sanitario y económico ya que tiende a desarrollarse de formas clínica o subclínica. En corderos, la mortalidad se presenta hasta en un 20%, ya que éstos no han adquirido una inmunidad específica ante la coccidiosis (Gjerde y Helle, 1991). Cuando se presentan manifestaciones clínicas, las más características en los animales son inapetencia, debilidad, pérdida de peso, diarrea, depresión y anemia (Abbas *et al.*, 2010). La destrucción de las células epiteliales intestinales produce un padecimiento entérico que se manifiesta en los signos clínicos mencionados (Harper y Penzhorn, 1999).

La infección se da por la ingesta de ooquistes esporulados (Müller y Hemphill, 2013). La alta contaminación del medio ambiente y la disminución de la resistencia del animal a las Eimerias son dos circunstancias esenciales para que se presente una coccidiosis clínica según Chartier y Paraud (2012). La primera tiene como consecuencia que el animal ingiera una elevada cantidad de ooquistes maduros y la segunda provoca masiva multiplicación asexual en el intestino del hospedador. Mohammed *et al.* (2000) establecen que la destrucción y pérdida de enterocitos y un marcado cambio en la microflora digestiva provocado por el aumento en número de bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* principalmente), son dos de los factores que influyen sobre la patogenia y la manifestación de los signos clínicos. A la necropsia, es común observar inflamación crónica y engrosamiento del intestino grueso; también se pueden encontrar hemorragias superficiales en mucosa, puntos blancos en el intestino delgado conocidos como nidos de esquizontes, así como atrofia de las vellosidades (Andrews, 2013).

Las especies de Eimerias se distinguen por su morfología y su sitio de predilección del tracto gastrointestinal. Generalmente, las especies más patógenas son las que colonizan la parte posterior del intestino (Taylor, 2012). Se ha hecho el reporte de 11 especies de eimerias que sólo afectan el intestino de los ovinos; pero se dice que *E. crandallis* y *E. ovinoidalis* figuran como las más



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

patógenas; ya que pueden llegar a causar diarrea, disminución en la ganancia de peso y un estado de pobre salud en general (Chartier and Paraud, 2012; Andrews, 2013).

Freaser y Amstutz (2000), mencionan que *E. ahsata* y *E. ovinoidalis* son patógenas para los corderos de entre uno y seis meses de edad y que todas las otras son esencialmente apatógenas; aún, cuando haya un número elevado de ooquistes en las heces. Por ejemplo, hay especies como *E. pallida* cuya patogenicidad se considera leve o insignificante. Recientemente se ha reportado otra especie de *Eimeria* que afecta solo el abomaso de los ovinos llamada *E. gilruthi* (Maratea y Miller, 2007; Hermosilla *et al.*, 2016) provocando anorexia y pérdida de peso; sin embargo, Quiroz (1984) ya mencionaba que su patogenicidad se desconocía.

La deshidratación e insuficiencias cardíacas pueden contribuir a que el valor del hematocrito se eleve; por el contrario, niveles bajos indican anemias y hemorragias de importancia. La anemia es una expresión frecuente en numerosas enfermedades parasitarias, que puede ser derivada por la acción hematófaga de parásitos como *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Mecistocirrus*, *Fasciola hepatica*, o debida a la destrucción de glóbulos rojos, como ocurre en la Babesiosis e incluso como consecuencia de pérdidas de sangre debidas a las lesiones provocadas por los parásitos, como se observa en *Eimeria* spp, *Ostertagia* y *Haemonchus* (Mandonnet, 1995). Stockdale *et al.* (1981) reportan una baja importante de Hematocrito al día 21 posinfección en becerros infectados artificialmente con *Eimeria zuernii*.

Normalmente los niveles proteicos en suero o plasma permanecen constantes, aunque puede haber pérdidas graves por hemorragias o intensas parasitosis que los modifican (Kaneko *et al.*, 1997). Para que se presenten signos clínicos como el edema, debe haber una disminución del 40 al 50% de la cantidad normal; sobre todo, cuando es de la fracción de la albumina. Si se presenta este nivel de afección, el pronóstico es grave, ya que sugiere un daño hepático irreversible. Disminuciones del nivel de proteínas se presentan en inanición, diarreas prolongadas, funcionamiento deficiente del hígado, parasitismo, enteropatías y daños renales. En todos estos casos hay disminución de la albumina y de proteínas totales, en tanto la globulina puede estar aumentada (respuesta inmunológica) y se enmascara la disminución total (Mendoza y Berumen, 2010).

### Material y métodos

Para determinar la frecuencia de *Eimeria* spp, se llevó a cabo el muestreo de una empresa pecuaria ovina de cada uno de cinco municipios del altiplano del Estado de Zacatecas (Calera, Enrique Estrada, Jerez, Pinos y Zacatecas). El número de corderos muestreados dependió de la existencia de estos en cada empresa pecuaria, tratando de obtener muestras de al menos un 10% de la población objeto de estudio. Se tomaron muestras de heces directamente del recto de los corderos las cuales se depositaron en bolsas de plástico, debidamente identificadas para ser transportadas en una hielera al laboratorio de usos múltiples de la UAMVZ UAZ donde se procesaron bajo la técnica de flotación con Solución Glucosada. Para la clasificación de coccidias se midió el largo y ancho a diez de las primeras observadas de cada muestra para determinar las proporciones de estas y se registró fotografía de cada coccidia; así mismo, se determinaron las cargas parasitarias con la técnica cuantitativa de McMaster.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Con las muestras de sangre tomadas por venopunción yugular en tubos de ensaye tipo vacutainer con anticoagulante (EDTA), se determinó hematocrito con el uso de tubos tipo wintrobe; los cuales se centrifugaron por treinta minutos a 3500 revoluciones y también se midió proteína plasmática con la ayuda de un refractómetro manual comercial. De las muestras tomadas del municipio de Jerez, no se registraron datos de OPG, HT y PTP. Se corrió un Análisis de Correlación de Pearson para todas las variables y Tukey para las variables paramétricas OPG, HT y PTP (SAS, 2004).

### Resultados y discusión

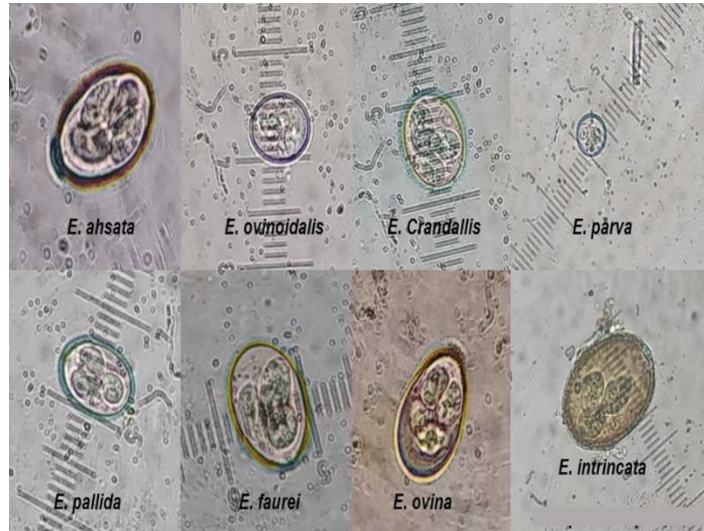
De 57 animales que fueron objeto de estudio del experimento, 13 resultaron negativos a eimerias. Se obtuvieron un total de 440 ooquistes de *Eimeria* spp. De acuerdo a sus características morfométricas, fueron identificadas ocho Eimerias de ovinos en el Altiplano Zacatecano con los siguientes porcentajes de prevalencia: *E. ahsata* (38%) y *E. ovinoidalis* (30%) como las dos principales; Además se encontraron *E. crandallis* (14%), *E. parva* (11%), *E. faurei* (4%), *E. pallida* (2%) y *E. intricata* y *E. ovina* (1% c/u). Silva Sánchez y Quiroz Romero (1993) realizaron un trabajo de identificación de Eimerias en Tlaxcala, México donde concluyeron que *E. ahsata*, *E. ovinoidalis* y *E. crandallis* son las que se presentan en mayor proporción; cabe mencionar que los porcentajes de muestras positivas a ooquistes de Eimerias son similares 68% para el trabajo mencionado y 77.2% del presente. Hay autores como Lima et al., (1995) y Reyes et al. (1996) que coinciden en que *E. ovinoidalis* es una de las Eimerias de mayor prevalencia en México.

En el estado de Lara, Venezuela, Hernández y Meléndez (2004) realizaron un trabajo de estudios morfométricos de especies de eimerias en ovinos donde mencionan que el 100% de sus muestras fueron positivas a ooquistes de eimerias identificando 2693 ooquistes y encontraron 11 especies, pero solo reportaron las de mayor prevalencia: *E. crandallis* 34.2%, *E. granulosa* 17.1%, *E. ovina* 14.3% y *E. weybridgensis* 8.8%, coincidiendo con el presente trabajo solo la presencia de *E. crandallis* y *E. ovina*. Lo cual sugiere que las especies (*E. ahsata* y *E. ovinoidalis*) si es que se presentaron, su prevalencia fue poco significativa.

Es importante destacar que Chartier y Paraud (2012) mencionan que *E. ovinoidalis* seguida por *E. crandallis* y *E. ahsata* figuran entre las especies más patógenas y, Fraser y Amstutz (2000) indican que *E. ahsata* y *E. ovinoidalis* son patógenas para los corderos de entre uno y seis meses de edad y que además todas las otras eimerias en ovinos son esencialmente apatógenas; aun cuando, haya un número elevado de ooquistes en las heces.

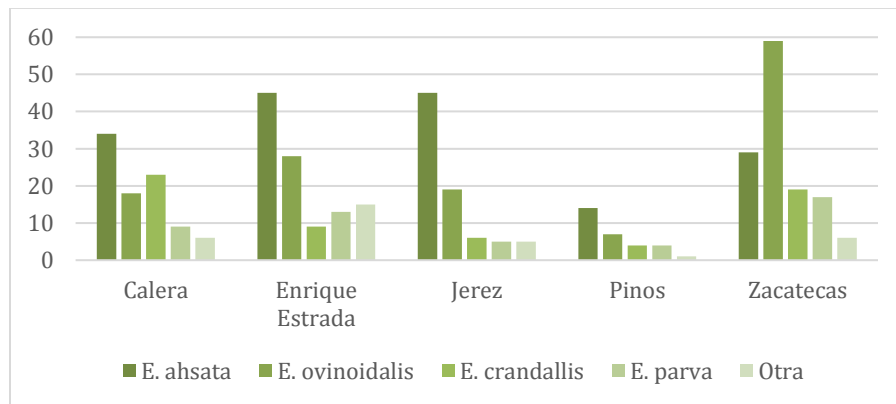


## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



**Figura 1.** Ooquistes de *Eimeria* spp en ovinos pre y postdestete del centro de Zacatecas (objetivo 40x, medida de cada *Eimeria* multiplicada por 2.5, para obtener el tamaño real en micras)

De los cinco municipios muestreados, en cuatro de ellos (Calera, Enrique Estrada, Jerez y Pinos,), *E. ahsata* se presentó en mayor proporción; sin embargo, en el municipio de Zacatecas, *E. ovinoidalis* fue mayor su prevalencia. *E. crandallis* fue la que se presentó en tercer lugar en todos los municipios (figura 3). Es importante mencionar que de los 16 animales pertenecientes al municipio de Pinos solo tres de ellos resultaron positivos a eimerias.



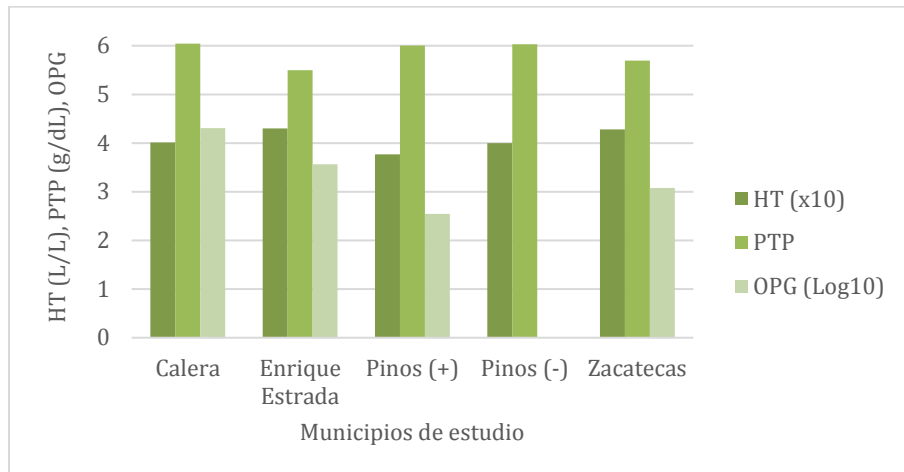
**Figura 2.** Frecuencia de Eimerias por municipio que se presentaron en mayor proporción en el centro del Estado de Zacatecas.

Se encontró correlación negativa ( $r=-0.262$  con tendencia de  $p=0.072$ ), entre el TA y HT, siendo que los corderos predestete tuvieron una cantidad de 43.11 y para postdestete 40.53 es decir que a mayor edad del animal, el hematocrito tiende a bajar. Se presentó una diferencia estadística significativa ( $p<0.05$ ) en la variable proteína total plasmática (PT) entre Calera (6.04 g/dL) y Pinos (6.03) con Enrique Estrada (5.5). Con respecto a OPG (log10) se presentó una diferencia estadística significativa ( $p=0.0001$ ) entre Calera (3.98), Enrique Estrada (2.96), Zacatecas (2.94) y Pinos (0.42); y Enrique Estrada (2.96) y Zacatecas (2.94) con Pinos (0.42). Las cargas parasitarias de los animales



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de Jerez, no fueron contabilizadas. Lo que no está relacionado directamente con las especies de Eimerias prevaletentes en cada municipio ya que las más predominantes como lo son *E. ahsata*, *E. ovinoidalis* y *E. crandallis* se encuentran de igual proporción en cada uno de ellos, a excepción de Zacatecas donde *E. ovinoidalis* presentó mayor prevalencia.



**Figura 3.** Comportamiento de Hematocrito (HT), Proteína total plasmática (PTP) y ooquiste por gramo de heces (OPG) por municipios. NOTA: El municipio de Pinos se presenta dos veces ya que en una están los positivos y en otra negativos a Eimerias.

### Conclusión

Se concluye que las especies de Eimerias más frecuentes en el altiplano del Estado de Zacatecas, México son *E. ahsata* y *E. ovinoidalis* consideradas por algunos autores las más patógenas que parasitan a los ovinos y sus proporciones varían entre los municipios de estudio.

### Referencias bibliográficas

- Andrews, A. H. 2013. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 110:93–95. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.11.011.
- Chartier, C. y C. Paraud. 2012. Coccidiosis due to Eimeria in sheep and goats, a review. *Small Rumin. Res.* 103, 84–92. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.10.022
- Hermosilla, C., A. Diakou y V. Psychas. 2016. Fatal *Eimeria gilruthi* - Induced Abomasal Coccidiosis: a still Neglected Parasitosis?. *J. Vet. Med. Res.* 3(4):1055.
- Hernández, I. y C. Meléndez. 2004. Estudios morfométricos de tres especies de Eimerias (Apicomplexa-Eimeridae) de caprinos y ovinos, *gaceta de ciencias veterinarias.* 9(2):44-47.
- Kaneko, J. J., J. W. Harvey y M. L. Bruss. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 4th ed. Academic Press, New York, USA.
- Lima, M. L., A. Romero, E. Tapia y G. Pérez. 1995. Diagnostics and identification of the different Eimeria species in sheep of the Valley of Mexico. UNAM.
- Maratea, K. A., M. Miller. 2007. Abomasal Coccidiosis Associated with Proliferative Abomasitis in a Sheep. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 19, 118–121 doi: 10.1177/104063870701900122



## **XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA**

- Müller, J., A. Hemphill. 2013. In vitro culture systems for the study of apicomplexan parasites in farm animals. *Int. J. Parasitol.* 43: (115–24).
- Stockdale, P.H.G., A.R. Bainborough, C.B. Bailey y L. Niilo. 1981. Some Pathophysiological Changes Associated with Infection of *Eimeria zuernii* in Calves. *Can. J. comp. Med.* 45:34-37.
- Taylor, M. A. 2012. Emerging parasitic diseases of sheep. *Vet. Parasitol.* 189:2-7





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA PROTEÍNA QUIMÉRICA MULTIEPITÓPICA CHP1.9 COMO ANTÍGENO VACUNAL CONTRA *Babesia bigemina*

## EVALUATION OF THE EFFICACY OF THE CHEMICAL PRETEIN MULTIEPITOPICA CH1.9 AS A VACCINATION ANTIGEN AGAINST *Babesia bigemina*

Figueroa BCA<sup>1,2</sup>, Hernández SDJ<sup>2,3</sup>; Hidalgo RM<sup>2</sup>, Morales GJR<sup>2</sup>, Carvajal GBI<sup>2</sup>, Aguilar TG<sup>4</sup>,  
Mosqueda J<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, UAQ

<sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología y Vacunas, Facultad de Ciencias Naturales, UAQ

<sup>3</sup>Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, UAQ

<sup>4</sup>Cuerpo Académico Salud Animal y Microbiología Ambiental, Facultad de Ciencias Naturales, UAQ  
mvzcristianfigueroa@gmail.com

Palabras Clave: Babesiosis, *Babesia bigemina*, vacuna multiepitópica, inmunización.

### Resumen

La babesiosis bovina, es una enfermedad producida por los parásitos intraeritrocíticos del género *Babesia*. Esta enfermedad es transmitida de un bovino a otro por las garrapatas del género *Rhipicephalus*. La babesiosis bovina representa un importante problema de salud animal y al mismo tiempo un impacto económico debido a la disminución de la producción y la muerte de animales infectados. En el mundo no existe ninguna vacuna recombinante para la prevención de la babesiosis bovina. En este estudio, se evaluó la proteína Chp1.9, una proteína recombinante multiepitópica, como antígeno vacunal contra *Babesia bigemina*. Se inmunizaron 5 bovinos con la proteína Chp1.9; se realizaron tres inmunizaciones los días 0, 21, 42, utilizando 100 µg de la proteína en 1 ml de adyuvante para el grupo tratamiento, mientras tanto el grupo control, compuesto también por 5 animales, solo se inmunizó con adyuvante. La eficacia de la vacuna se evaluó desafiando a todos los animales con una cepa de campo de *Babesia bigemina* en una dosis de  $1 \times 10^8$  eritrocitos parasitados (EP) y midiendo los parámetros de temperatura rectal (TR), volumen celular aglomerado (VCA) y porcentaje de EP (PEP) durante 10 días post infección. El PEP del grupo vacunado fue significativamente menor ( $p < 0.5$ ) al grupo control en tres de los días de evaluación y los días de parasitemia fueron menos. La mayoría de los animales del grupo control presentó fiebre por tres días o más y reducción del VCA de 40% o más, mientras que ningún animal del grupo vacunado alcanzó estas condiciones. El día 11 post infección los animales del grupo control fueron tratados con Imidocarb mientras que ningún animal del grupo vacunado requirió tratamiento. La inmunización con Chp1.9 confirió protección al desafío controlado contra *B. bigemina* en bovinos susceptibles y puede ser considerada un candidato vacunal contra esta enfermedad.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE *ANAPLASMA* spp. EN VENADOS COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) EN CAUTIVERIO, EN SINALOA.

## MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION OF *ANAPLASMA* spp. IN VENADOS COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) IN CAPTIVITY, IN SINALOA.

Ibáñez GLR\*, Gaxiola CSM, Enríquez VI, Borbolla IJE, Castro del CN, Barraza TC, López ACV,  
Solís CJD

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa  
soilagaxiola@uas.edu.mx

Palabras clave: MORFOLOGÍA, ANAPLASMA, VENADO COLA BLANCA

### Introducción

El venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) es el ungulado con mayor área de distribución en el continente Americano. En México, se le encuentra en todo el territorio excepto la península de Baja California, algunas áreas del norte de Chihuahua y norte de Sonora, Gallina (2010). Es una especie de cérvido mediano, caracterizado por tener un cuello largo y grueso, patas largas, hocico alargado y orejas grandes; les caracteriza el perder las astas entre enero y marzo y las nuevas empiezan a crecer entre abril y mayo; Los venados cola blanca son considerados reservorios de la Anaplasmosis, una enfermedad causante de pérdidas en la producción pecuaria, misma que es transmitida por vectores garrapatas, tábanos, entre otros (Silva-Iturriza *et al.*, 2013). De igual manera estos vectores transmiten patógenos del tipo de los protozoarios, rickettsiales y agentes virales que impactan en la salud humana (Estrada-Peña y Jongejan, 1999; Parola *et al.*, 2001). Las pérdidas en la actividad pecuaria asociadas a la Anaplasmosis, están comprendidas directamente por la muerte de animales, los tratamientos farmacológicos o bien por el combate de los vectores (Silva-Iturriza *et al.*, 2013). Sobre sus repercusiones económicas Brayton, (2012), menciona que las enfermedades infecciosas transmitidas por garrapatas a los animales son consideradas las más importantes a nivel mundial con costos económicos anuales estimados en \$ 7 mil millones de dólares dentro de los E.U.A., por otra parte se estima que la Anaplasmosis es responsable de al menos 100,000 muertes de ganado por año, con pérdidas económicas mundiales van desde 30 hasta 60 millones de dólares. La infección ocurre a través de la picadura de una garrapata portadora de la bacteria. Las especies de Garrapatas *Rhipicephalus* spp., *Boophilus* spp., *Dermacentor* spp; *Ixodes* spp., son la fuente principal de transmisión, aunque otras fuentes de transmisión mecánica han sido reportadas (Lbacha *et al.*, 2017). La incubación dura de 7 a 60 días después de los cuales si la parasitemia de los glóbulos rojos excede el 15% del umbral, aparecen los signos clínicos, la severidad de los signos observados durante la fase clínica varían según la virulencia de la cepa y el estado inmune de los animales infectados (Lbacha *et al.*, 2017). Por otra parte los principales agentes etiológicos de este padecimiento son *Anaplasma(A) ovis* y *A. marginale* cuyo cuadro clínico incluye: depresión, debilidad, disminución de la producción de leche, pérdida de peso, aborto y anemia severa en áreas endémicas (Yasini *et al.*, 2012). Epidemiológicamente la enfermedad se transmite por una variedad de factores que incluyen la geografía y el clima, los cuales determinan la variedad de garrapatas o moscas mordedoras responsable de los casos locales de infección (Foil,1989); *A. spp*; es un microorganismo intracelular obligado, de tipo Gram negativo, se replica en las células sanguíneas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de los mamíferos; donde diversos rumiantes silvestres son reconocidos como reservorios, sin embargo, en muchos casos, las bacterias del género *Anaplasma*, afectan a los animales domésticos, incluso a personas (Rymaszewska *et al.*, 2008). Diversos estudios dan cuenta de que tanto el ganado bovino como los venados cola blanca son responsables de mantener poblaciones importantes de garrapatas en los agostaderos y estos últimos están considerados como hospedadores (Gonzales-V *et al.*, 2010). Con respecto al diagnóstico de este importante padecimiento Tana-Hernández *et al.* (2017), refieren que uno de los métodos más utilizado para diagnosticar ésta bacteria hemotrópica es el examen directo en frotis de sangre como lo describe en sus resultados Silva-Iturriza *et al.* (2013) en su estudio en el que de cinco venados capturados, en un hato de la región de Venezuela dos resultaron positivos *A. marginale* utilizando este diagnóstico parasitológico. En este sentido, utilizando esta técnica, en un estudio realizado en China por Le *et al.* (2013) diagnosticaron 8 ejemplares de venado rojo silvestre (*Cervus elaphus*) y 4 ejemplares de venado sika (*Cervus nippon*) en cautiverio. Dada la importancia de la ganadería en el estado de Sinaloa, aunado a la distribución geográfica de *O. virginianus* en esta región, y considerando que con frecuencia son ejemplares de *O. virginianus* de colecciones zoológicas privadas son de extracción local, se realizó este estudio para diagnosticar *A. spp.*, en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio en Sinaloa.

### Objetivo

Identificar morfológicamente *Anaplasma marginale* en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio.

### Material y métodos

El presente estudio se realizó en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa en el municipio de Culiacán Sinaloa, localizado entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 49' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1800 m con rango de temperatura de 18-26°C y rango de precipitación de 400-1100mm (INEGI, 2011). Es un estudio observacional transversal por conveniencia donde se muestrearon 8 predios de venados cola blanca de los municipios de Culiacán, Badiraguato, San Ignacio y Cosalá (Cuadro 1), de los cuales 4 son unidades de manejo para la conservación de la vida silvestre (UMA's) previamente autorizadas por la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y los otros 4 establecimientos no contaron con registro al momento del muestreo, determinándose para la toma de muestra aquellos animales que se apreciaban bajos de peso, y previamente autorizado por el propietario, se muestreo el 22% (7/32) de los animales de las uma's y el 33% (8/24) de los ejemplares de los predios no registrados, tomándose un total de 15 muestras de sangre de venados cola blanca de la especie (*O. virginianus*), de 1 a 14 años. Los venados muestreados fueron contenidos de manera química (Silva-Iturriza *et al.*, 2013); con dardos de 3 ml, utilizando un protocolo para anestesia correspondiente a la mezcla de ketamina, xylacina y Zoletil 100, la dosis se inyectó a distancia mediante un equipo Telin jectl. La muestra de sangre periférica se colectó de la vena yugular utilizando jeringas de 5ml y tubos con EDTA. El procedimiento de toma de muestras fue por la mañana sin sobrepasar las 14 h (De la Cruz, 2017). Una vez obtenida la sangre, ésta se agitó suavemente y se colocaron en hieleras con refrigerantes para su conservación y envió al laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; concluido los procedimientos se le aplicó a los ejemplares anestesiados Tolazoline (antagonista de receptor  $\alpha$ -adrenérgico) por vía endovenosa para revertir el efecto de la anestesia;

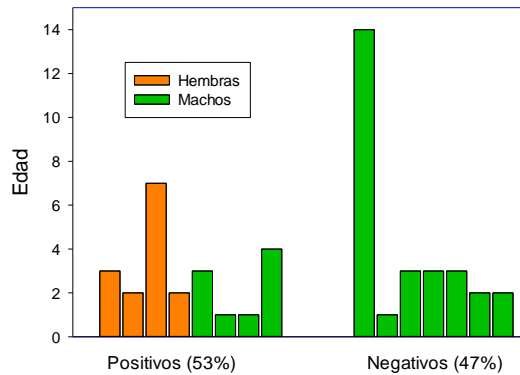


# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

las muestras se prepararon para realizarles extensiones (frotis) sanguíneo para posteriormente teñirlas con el colorante de Wright, útil para identificar la presencia de microorganismos hemáticos, (Gaxiola *et al.*, 2011) y se observaron al microscopio. La tinción de Wright es una técnica que se emplea generalmente para la diferenciación de elementos celulares de la sangre y es clasificada como una tinción policromática, dado que puede teñir compuestos ácidos o básicos presentes en una célula (Lopez-Jacome *et al.*, 2014).

## Resultados

Del total de muestras analizadas el 53.3% (8/15), resultaron positivas (Grafica 1), a *A. spp* (Imagen 1) de las cuales de acuerdo al sexo 50% fueron machos y 50% hembras; respecto a la edad se observó a los animales entre 1 y 3 años con la mayor presencia al microorganismo y el municipio con el mayor porcentaje de *A. spp* fue Culiacán con un 33.33% (5/15) seguido de Badiraguato, San Ignacio y Cosalá con un 6.66 % (1/15) cada uno. (Cuadro 1).



Grafica 1. Se muestran los individuos por edad y sexo donde el 50% son machos y el 50% hembras.

Municipio	Número de muestra	Predios	% Positivos	Sexo	Edad (años)
Culiacán	5	Culiacán	33.33	M	14
		Culiacán		H(+)	3
		Culiacán		M	2
		Zoo Culiacán		M	2
		Zoo Culiacán		M	3
	3	Ejido El 10		M	3
		Ejido El 10		M(+)	4
		Ejido El 10		M(+)	1
	1	Ejido nuevo mundo		M(+)	1
1	Lo de Bartolo	H(+)	7		
Badiraguato	2	Surutato	6,66	M	3
		Surutato		H(+)	2
San Ignacio	2	Piactla	6.66	M(+)	3
		Piactla		M	1
Cosalá	1	Cosalá	6.66	H (+)	1

Cuadro 1. Identificación de *Anaplasma spp* en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (+) Muestra positiva a *A. spp* por microscopia óptica.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

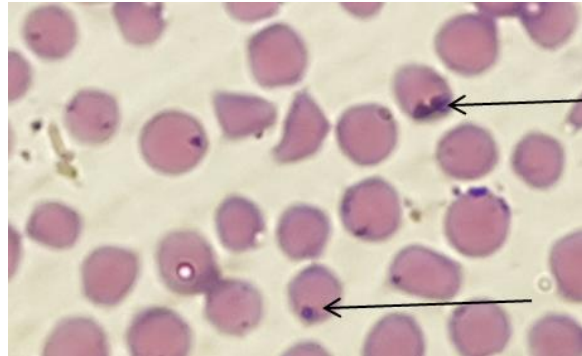


Fig. 1 Visualización de eritrocitos parasitados mediante la tinción de Wright (aumento 100x).

### Discusión

De las 15 muestras de sangre de venado cola blanca, 8 (53.3%) resultaron positivas *Anaplasma* spp, lo cual demuestra la presencia de esta bacteria en sangre periférica de venados cola blanca, estos resultados son similares a lo reportado por Silva-Iturriza *et al.* (2013) donde determinaron la infección activa por *Anaplasma* spp en 2 ejemplares de venado cola blanca (40%) de un grupo de 5 animales capturados; considerando que los porcentajes positivos son similares debido a la presencia activa de esta bacteria y proporcional a la cantidad de muestras.

Sin embargo el estudio de Le *et al.* (2013) realizado en china observaron en frotis sanguíneo 8 muestras positivas de ciervos rojos (*Cervus elaphus*) salvajes (18.2%, 8/44) de la montaña Qilian y 4 muestras positivas de venados sika (*Cervus nippon*) domesticado (10%, 4/40) de la montaña Long, donde se observaron patógenos similares a *Anaplasma* spp. La diferencia en el porcentaje de individuos positivos con *Anaplasma* spp con respecto a lo reportado en el presente estudio puede obedecer al tamaño de muestra, así como que no existe correspondencia con la región y el tipo de especies analizadas.

Por otra parte no existe diferencia entre el sexo de los animales y la condición de infectado, aunque si se observó diferencia en la clase de edad donde los animales más jóvenes fueron los más afectados, lo cual puede obedecer a factores de carácter inmunológico, por lo que estudios complementarios son requeridos.

### Conclusión

La presencia de muestras positivas a *Anaplasma* spp, en sangre de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio en Sinaloa, indican que estos pueden ser reservorios y un potencial transmisor de la Anaplasmosis en los animales domésticos y por ello es conveniente llevar a cabo un muestreo periódico para la detección oportuna de dicha bacteria para llevar un control epidemiológico más eficiente.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Brayton, K. A. (2012). "Tick Transmission of *Anaplasma marginale*". *Rev Mex Cienc Pecu.* (3), 41-50.
- De La Cruz, B.E. (2017) Uso de Succinilcolina para inmovilización química de Venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en Jalisco. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 18 (7):1-5.
- Gaxiola, S.M., Castro-Del C, N., Cota-G, S., Barraza-T, C. L., Solís-C, J. D., Enríquez-V, I., Gaxiola-M, J., Pérez-C, A., Borbolla-I, J.E., Quintero-O, I., Rubio-R, M. C. (2011)"Prevalencia de parásitos hemáticos en caninos de Culiacán, Sinaloa, transmitidos por garrapatas". XIX congreso nacional de parasitología Mazatlán Sinaloa.
- INEGI. (2011) Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Gobierno de México. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Sinaloa. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/>.
- Li, Y., Chen, Z., Liu, J., Yang, J., Li, Q., Li, Y., Luo, J., Yin, H. (2013) "Molecular Survey of *Anaplasma* and *Ehrlichia* of Red Deer and Sika Deer in Gansu, China", *Medline*, 228–236, doi:10.1111/tbed.12335.
- Lbacha, H. A., Zouagui, Z., Alali, S., Rhalem A., Petit, E., Ducrotoy, M. J., Boulouis, H. J., Maillard, R. (2017) "Candidatus *Anaplasma cameli* in onehumped camels (*Camelus dromedarius*) in Morocco: a novel and emerging *Anaplasma* species?" *Cross Mark*, 6:1
- López-Jácome, L.E., Hernández-Durán M., Colín-Castro C.A., Ortega-Peña S., Cerón-González G., Franco-Cendejas R. (2014) "Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología". *Medigraphic*, vol. (3), 10-18.
- Rymaszewska, A., Grenda, S. (2008) "Bacteria of the genus *Anaplasma* characteristics of *Anaplasma* and their vectors" review, *Veterinari Medicina*, (53), 573–584.
- Silva-Iturriza, A., Panier, E., Reyna-Bello, A., Perrone, T., Aso, P. (2013) "EVALUACIÓN PARASITOLÓGICA Y SEROLÓGICA DE INFECCIONES HEMOTRÓPICAS EN VENADOS DE COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) EN VENEZUELA" *Revista Científica, FCV-LUZ II*, N° (1), 37 – 41.
- Tana-Hernández, L., Navarrete-Arroyo, K., Ron-Román, J., Reyna-Bello, A., Chávez-Larrea, M. A. (2017) "PCR-diagnosis of *Anaplasma marginale* in cattle populations of Ecuador and its molecular identification through sequencing of ribosomal 16S fragments" *BMC* Vol. (13), 392. doi: 10.1186/s12917-017-1311-1.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## COMPORTAMIENTO DE LOS ANTICUERPOS ANTI- *Neospora caninum* DURANTE LA GESTACION EN VACAS EN RELACION CON EL ABORTO

### Anti-*N. caninum* ANTIBODIES STATUS DURING COWS GESTATION IN RELATION TO ABORTION

Landín de VPE<sup>\*1</sup>, Medina ELE<sup>1</sup>, Cruz VCR<sup>1</sup>, Ramos PM<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes.  
efren.landindev@outlook.com

Palabras clave: *Neospora caninum*, aborto, anticuerpos anti-*N. caninum*.

#### Resumen

*Neospora caninum*, como causante de abortos en bovinos ocasiona grandes pérdidas económicas en los hatos lecheros, al presentarse reducción del número de crías, muertes embrionarias, disminución en la producción de leche. El objetivo fue observar del comportamiento del nivel de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en vaquillas gestantes infectadas naturalmente en diferentes estaciones del año. Materiales y métodos, fue una estudio epidemiológico de tipo transversal, para su realización se seleccionaron 15 vaquillas se consideró el tercio de gestación en que se encontraban, en la etapa de campo consistió en la toma de muestras de sangre mensualmente durante seis meses, se observó el cambio del clima durante dos estaciones. En la etapa de laboratorio, la sangre se centrifugo a 3000 RPM para la obtención del suero, éstos fueron analizados mediante la prueba de inmuflorencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos anti-*Neospora caninum*, el punto de corte fue de 1:100 para diagnosticarlas positivas. Resultados obtenidos fue un total de 93 muestras de suero, se observó que la dilución más baja fue de 1:200 y la más alta de 1:51200. El valor con mayor número de repeticiones fue 1:6400 (n=24) y 1:200 y 1:51200 (n=1) los menores, en relación al cambio de clima, se detectó una variación en el nivel de anticuerpos en relación a la estación de primavera, encontrándose su mayoría sobre el rango 1:400 a 1:6400, los datos de invierno oscilaron entre 1:800 y 1:25600. En conclusión, se puede inferir que la estación del año tiene influencia con el nivel de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en vaquillas gestantes.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PRESENCIA DE *Balantidium caviae* EN COBAYOS HARTLEY (*Cavia porcellus*) DE BIOTERIOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

## PRESENCE OF *Balantidium caviae* IN CUYES HARTLEY (*Cavia porcellus*) OF BIOTERIOS OF MEXICO CITY

\*Martínez A<sup>1</sup>, Padilla AP<sup>1</sup>, Figueroa CJ<sup>1</sup>; Romero CE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico Parasitológico, Departamento de Parasitología, FMVZ-UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, CDMX.

eva\_romeroc@yahoo.com.mx

Palabras clave: Cobayo, *Balantidium caviae*, México.

### Resumen

Los cobayos o conejillos de indias son considerados como uno de los biomodelos de laboratorio más importantes para realizar pruebas de producción y control de medicamento, entre otras, por lo que se debe realizar un constante monitoreo de agentes patógenos (virus, bacterias o parásitos) para garantizar que los resultados de los experimentos no se vean alterados. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de parásitos en cobayos Hartley (*Cavia porcellus*). Se obtuvo un total de 20 muestras provenientes de diferentes bioterios ubicados en la Ciudad de México. Se procesaron empleando técnicas de rutina en la parasitología, lo anterior se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El 100% de los roedores revisados solo fueron positivos al protozoo: *Balantidium caviae*. La presencia de parásitos en estos biomodelos se atribuye al inadecuado manejo de la temperatura, humedad, corrientes de aire, densidad, limpieza en camas o dietas mal balanceadas que pueden predisponer al animal a padecer de eventos de estrés que generen una inmunosupresión que incremente la vulnerabilidad a diferentes enfermedades. *B. caviae* suele ser un protozoo ciliado no patógeno que posee un micro y un macronúcleo y se transmite por la ruta fecal-oral. Habita el ciego y el colon, y sus trofozoítos pueden ser un patógeno oportunista en las enteropatías bacterianas. Se pueden ver infecciones en los animales no jóvenes con una postura anormal o encorvada, con pelaje de pelo áspero. Por lo que se recomienda implementar medidas de bioseguridad para eliminar el problema.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## COMPORTAMIENTO INMUNOLÓGICO EN VACAS LECHERAS NATURALMENTE INFECTADAS POR *Neospora caninum* ASOCIADAS A LA PRESENCIA DE AFLATOXINAS

### IMMUNE BEHAVIOR IN DAIRY COWS NATURALLY INFECTED BY *Neospora caninum* ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF AFLATOXINS

Medina EL\*, Quezada TT, Padilla DK, Cruz VC

\*Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes.  
lmedinaesparza@yahoo.com.mx

Palabras clave: Respuesta inmune, *N. caninum*, Aflatoxinas

#### Resumen

El objetivo del estudio fue relacionar el comportamiento de la respuesta inmune en vacas lecheras naturalmente infectadas por *Neosporacanium* durante la primera gestación de la exposición natural asociadas a la presencia de micotoxinas. Materiales y métodos, se eligieron dos establos, uno que adicionaba un secuestrante de micotoxinas en el alimento y otro sin adicionar. En cada establo se seleccionaron 10 vaquillas seropositivas y 10 seronegativas a *Neospora caninum*, que se monitorearon durante la gestación, mensualmente se tomaron muestras de sangre para su análisis mediante ELISA (IgG total, IgG1, IgG2, SAG4 y GRA7) para *Neospora caninum*, se cuantificaron especialmente aflatoxinas y se desarrollaron pruebas de funcionamiento hepático en todos los casos. Los resultados mostraron que la respuesta inmune tuvo un comportamiento acorde al seroestatus de cada grupo, aunque se presentó una elevada seroconversión en el establo que no uso secuestrante de micotoxinas; sin observar inmunodepresión en ninguna de las vacas en estudio. La concentración de aflatoxinas en el alimento estuvo en rango de 3 a 19 µg/kg; los valores de las pruebas de la función hepática se mantuvieron dentro de los valores de referencia. No fue posible identificar alguna relación entre la ingestión de micotoxinas (aflatoxinas) y la respuesta inmune en los animales bajo estudio.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PREVALENCIA DE *Cryptosporidium* EN BECERROS Y SUS MADRES EN EL MUNICIPIO DE EL LLANO AGUASCALIENTES, MÉXICO

### THE PREVALENCE OF *Cryptosporidium* IN CALVES AND THEIR MOTHERS IN THE MUNICIPALITY OF LLANO AGUASCALIENTES, MEXICO

Núñez AOC<sup>\*1</sup>, Vitela MIV<sup>1</sup>, Cruz VCR<sup>1</sup>, Ramos PM<sup>1</sup>, Campos VG<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, <sup>2</sup> Hospital Infantil de México Federico Gómez.

nunezaguilcarolina@gmail.com

Palabras clave: *Cryptosporidium*, prevalencia, bovinos.

#### Resumen

La criptosporidiosis es provocada por *Cryptosporidium*, parásito-protozoario que infecta las células epiteliales del intestino delgado de rumiantes en las primeras semanas de vida, ocasionando deficiente absorción de nutrientes. El objetivo fue conocer la prevalencia de *Cryptosporidium* en becerros lactantes y sus madres en una unidad de producción lechera en el municipio de El Llano Aguascalientes, México. Se tomaron muestras de heces en el periodo primavera-verano a 449 becerros durante el primer mes de vida, alojados en jaula (confinados) e iglú (no confinado) y a sus madres en periodo de parto. Se realizó un examen parasitoscópico mediante la tinción de Kinyoun, de las muestras positivas se amplificó la región 18S rARN (140 bp) del parásito mediante PCR. Como resultado se identificó una prevalencia de *Cryptosporidium* de 33.6 % (151/449) en becerros y 37.6 % (169/449) en las madres. En cuanto a la presencia de diarrea en los becerros infectados fue del 92.5 % (139/151). La mayor prevalencia en los animales se encontró en becerros 11 a 15 días de nacidos con 83.4 % (126/151), en las vacas en un periodo de 1 a 5 días después del parto fue de 80.4 % (136/169). El tipo de sistema de producción de los becerros, reveló que los animales mantenidos en condiciones de jaula tienen una mayor prevalencia 45.7 % (98/214) sobre los mantenidos en iglú 22.5 % (53/235). Así mismo, en primavera se mostró la mayor prevalencia del parásito tanto para becerros como sus madres con un 53.7 % (29/55) y 45.4 % (25/55) respectivamente. El análisis de regresión logística (STATA) mostró una asociación entre la presencia de diarrea, el sistema de producción y la infección de la madre con la presencia del parásito en el becerro. Los resultados obtenidos confirman la amplia prevalencia de *Cryptosporidium* en el municipio de El Llano.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Neospora spp* EN CABALLOS EN LA REGIÓN CENTRO- OCCIDENTE DE MEXICO

## IDENTIFICATION OF PRESENCE OF *Neospora spp* IN HORSES OF WESTERN CENTRAL REGION OF MEXICO

Padilla DKJ\*, Medina ELE, Cruz VCR, Vitela MIV, Quezada TT

\* Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes.  
keny2708@hotmail.com

Palabras Claves: *Neospora spp.* caballos. Inmunofluorescencia Indirecta.

### Resumen

El objetivo del estudio fue estimar la seroprevalencia de *Neospora spp.* mediante la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en caballos de la región centro occidente de México. Fueron seleccionados un total de 258 animales que habitaban en diferentes estados de esta región, se tomó una muestras de sangre de cada animal incluido en el estudio por punción de la vena Yugular con equipo Vacutainer®. El diagnóstico se realizó con los sueros que se sometieron a análisis mediante la técnica de IFI para detectar anticuerpos anti-*Neospora sp.* utilizando laminillas antigenadas con taquizoitos de *Neospora caninum* cepa NC-1 e inmunoglobulina G equina con (Anbti equine IgG FI-TC Conjugate vmrd). Los resultados presentaron la presencia del parásito. La prevalencia general manifestada fue de 5.43% (14/258) la cual resultó similar a la observada por Yeangan et al., (2013) en un trabajo previo, quienes realizaron un estudio en el mismo país pero en diferente zona región, en el que reportan prevalencias de 3%. Concluyendo que el protozooario *Neospora spp.* está presente en los caballos de la región.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## RECONOCIMIENTO DE LAS PROTEÍNAS RECOMBINANTES MSA-1 Y RAP-1 EN OVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE

### RECOGNITION OF THE RECOMBINANT PROTEINS MSA-1 AND RAP-1 IN SHEEPS EXPERIMENTALLY INOCULATED

Palacios CM<sup>1</sup>, Pérez MXA<sup>1</sup>, Santamaria ERM<sup>\*2</sup>, Figueroa MJV<sup>2</sup>, Polanco MDJ<sup>2</sup>, Lira AJJ<sup>2</sup>, Vargas UP<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Universitario UAEM Amecameca. Carretera Amecameca, Ayapango KM 2.5, Centro, 56900 Amecameca de Juárez, Méx.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Carr. Fed. Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Jiutepec, Morelos, C.P. 62550 santamaria.rebeca@inifap.gob.mx

Palabras clave: Proteínas Recombinantes, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*.

#### Introducción

La babesiosis bovina es una enfermedad causada por protozoarios intraeritrocíticos obligatorios del género *Babesia*, la cual es transmitida por la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) spp.* cuya distribución es muy amplia en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Bock *et al.*, 2004). En México, la babesiosis es causada por las especies *B. bovis* y *B. bigemina*. Los principales signos clínicos son hemoglobinuria, ictericia, anemia, fiebre, debilidad, apatía, anorexia, aborto, deshidratación y finalmente puede llegar a la muerte (Florin *et al.*, 2014). En cuanto a la signología existen variaciones según la especie, en las causadas por *B. bovis* la presentación es más virulenta y se caracteriza por fiebre alta, ataxia, anorexia, shock circulatorio general y en ocasiones signos nerviosos asociados al secuestro de eritrocitos infectados en los capilares cerebrales (Vial y Gorenflot, 2006; Mtshali *et al.*, 2013). Mientras que en infecciones por *B. bigemina* hay fiebre, hemoglobinuria y anemia (Cantó *et al.*, 2003, Figueroa *et al.*, 1998). Esta enfermedad se considera uno de los factores que limita la salud para el desarrollo de la ganadería en las regiones tropicales y subtropicales de México y de otros países del mundo, debido a su distribución la cual está delimitada por la presencia de su vector, y relacionada a factores ambientales como temperatura, humedad relativa y la cobertura de vegetación, entre otros factores (Cantú y García, 2013). Las regiones tropicales y subtropicales de nuestro país representan un 53 % del territorio nacional. En donde más del 75% de la ganadería bovina se encuentra en estas regiones (Bautista y Martínez, 2012), es decir, del inventario nacional (33.5 millones de cabezas de bovinos aproximadamente) 25.1 millones se encuentran en áreas de alta endemicidad. En el 2016 se realizó una estimación por pérdidas económicas anuales, generadas por la disminución en producción láctea, debido a la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, estimando un monto de US\$ 68, 878, 694. Mientras que las pérdidas en animales de engorda encastados en el trópico de nuestro país (*Bos indicus* x *Bos Taurus*) se estimó un monto de US\$ 504, 729, 382, por infestaciones del vector (Rodríguez *et al.*, 2017). Estamos hablando de grandes pérdidas económicas solo por la presencia del vector, sin embargo, no existe una estimación nacional por pérdidas generadas por la babesiosis bovina. Brevemente, el ciclo biológico de estos protozoarios requiere al vector (huésped invertebrado) y un bovino, para lo cual en este último se han estudiado algunas proteínas inmunológicamente importantes como lo son MSA- 1 (Antígeno de la superficie del merozoito) (Gimenez *et al.*, 2016) y



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

RAP-1 (Proteína Asociada a Roptrias) para *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, respectivamente. Su función principal es la participación durante la invasión al eritrocito, además de ser proteínas altamente inmunógenicas, así mismo, son proteínas candidatas a utilizarse como antígenos específicos y realizar diagnóstico de la enfermedad (Figueroa *et al.*, 2017).

### Objetivo

El objetivo del presente estudio consistió en determinar el reconocimiento de anticuerpos anti-MSA-1 y anti RAP-1 en ovinos inmunizados con proteínas recombinantes.

### Materiales y métodos

Muestras. Se emplearon sueros sanguíneos de 4 ovinos inoculados con 6 dosis de proteínas recombinantes, con una concentración acumulada de 1900 µg/mL para RAP-1 (n= 2 ovinos) y 4020 µg/mL para MSA-1 (n=2 ovinos), cada dosis administrada por vía subcutánea con un intervalo de 14 días.

Inmunofluorescencia Indirecta. Con el objetivo de identificar el reconocimiento antigénico de los sueros anti-MSA-1-1 y anti-RAP-1 de los ovinos, se utilizaron eritrocitos parasitados de *B. bovis* y *B. bigemina*, respectivamente (Especie por separado). Brevemente, se desecaron las laminillas con el antígeno para su posterior fijación con acetona durante 5 min. Se delimitaron las áreas para los controles y los sueros problema. Se realizó el primer incubado a 37°C, durante 30 min de las diluciones dobles seriadas a partir de 1:80 a 1:10240 en PBS, de cada uno de los sueros y respectivos muestreos pos-inmunización, se realizaron 3 lavados, dos con PBS y uno con agua destilada. Se continuó con el segundo incubado empleando una dilución 1:250 del conjugado (Anti IgG de ovino, marcada con isotiocinato de fluoresceína). Finalmente, se realizó la visualización de los resultados empleando un microscopio de epifluorescencia con el objetivo de 100 x, empleando glicerina fosfatada como aceite de inmersión.

Ensayo Inmunoenzimático Indirecto (iELISA). Se realizó un ensayo inmunoenzimático en fase sólida, empleando como antígenos las proteínas recombinantes MSA-1 y RAP-1, de *B. bovis* y *B. bigemina*, respectivamente (Castañeda, 2011). Se sensibilizaron las placas con 60 ng/pozo utilizando como diluyente un buffer de carbonatos pH 9.6. Las placas se incubaron a 4°C durante toda la noche. Se continuó haciendo un bloqueo con leche al 3%, PBS-Tween al 0.1%. Posteriormente se adicionaron 50 µL de los sueros problema, empleando una dilución 1:200 en PBS. Se incubó a 37°C, durante una hora. Transcurrido el tiempo se adicionó un segundo anticuerpo (conjugado) anti-IgG de ovino marcado con peroxidasa en una dilución 1:10,000 en PBS y se incubó a 37°C, durante 30 minutos al cabo de los cuales se adicionaron 50 µL de sustrato Tetrametil-Bencidina (TMB), finalmente se procedió a la lectura en un lector de ELISA, determinando los valores de absorbancia a una densidad óptica de 650 nm. El valor de umbral fue establecido usando la media de absorbancia de tres muestras no reactivas (muestras basales), más tres desviaciones estándar. Para esto, la interpretación de los resultados se realizó considerando el umbral de absorbancia, donde muestras con valores menores al umbral establecido son negativas, por el contrario, muestras superiores al umbral establecido, fueron tomadas como positivas.

### Resultados Y Discusión



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Inmunofluorescencia Indirecta. Los resultados obtenidos en la prueba de inmunofluorescencia indirecta, nos indican que hay un reconocimiento (inmunocomplejo) del antígeno auténtico de los eritrocitos parasitados con *B. bovis* y *B. bigemina*. En donde se logró observar reconocimiento, a partir del segundo muestreo en los dos ovinos inoculados con Msa-1 de *B. bovis* (Figura 1A), llegando al máximo título de anticuerpos de 1:5120 para uno de los ovinos, posterior al cuarto muestreo. Sin embargo, el segundo ovino (199) inoculado con la misma proteína llegó a un título de anticuerpos de 1:10240 al último muestreo (Figura 2). Mientras que para el antígeno Rap-1 de *B. bigemina*, se observó el reconocimiento posterior al 3 y 4 muestreo (Figura 1B), llegando a tener títulos de 1:640 y 1:1280 en los ovinos 197 y 198, respectivamente (Figura 2).

Ensayo Inmunoenzimático Indirecto (iELISA). El punto de corte para la prueba iELISA fue de 0.183 para MSA-1, logrando observar al segundo muestreo un reconocimiento de los anticuerpos con la proteína recombinante, también se mostró el ascenso y cinética de anticuerpos, llegando a la máxima D.O. al cuarto y sexto muestreo (D.O. 0.598 y 0.689), para los ovinos inoculados con Msa-1 a lo largo del estudio (Figura 3). Los resultados indican que hay reconocimiento de los anticuerpos presentes en el suero de los ovinos inoculados, contra el antígeno, en este caso la proteína MSA-1. Por otro lado, con la proteína RAP-1 se determinó un punto de corte de 0.686, al igual que en MSA-1 se lograron observar presencia de anticuerpos al segundo muestreo, superior a una D.O. 0.6, para ambos ovinos, sin embargo, la cinética de anticuerpos no fue constante logrando tener la máxima D.O. 0.69 (al muestreo 6/6) y una D.O. 0.66 (al muestreo 5/7), para los ovinos 197 y 198, respectivamente.

La instrumentación de ambas técnicas serológicas nos indican que hay un reconocimiento de los anticuerpos policlonales producidos por los ovinos, como respuesta a la inoculación con las proteínas específicas para *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*. Sin embargo, para la técnica de IFI, el antígeno empleado fue como tal eritrocitos infectados, derivados de cultivo *in vitro*, con cada una de las especies de *Babesia* por separado (antígeno auténtico), mientras que para la técnica de iELISA el antígeno que se utilizó es la misma proteína que se inoculó a los ovinos MSA-1 y RAP-1 (proteínas recombinantes). Por lo cual, nos indican que hay reconocimiento específico para ambos antígenos, en el caso de MSA-1, mientras que los resultados obtenidos para RAP-1 en ambas técnicas serológicas fueron menores a las obtenidas con MSA-1, lo que nos muestra que MSA-1, puede tener mayor capacidad de antigenicidad. Así mismo, es importante recalcar que los ovinos inoculados con RAP-1, también desarrollaron anticuerpos con reconocimiento al antígeno nativo, lo cual es inmunológicamente importante, dado que la proteína recombinante preparada en *Escherichia coli* es aparentemente una copia fiel del antígeno RAP-1 auténtico.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

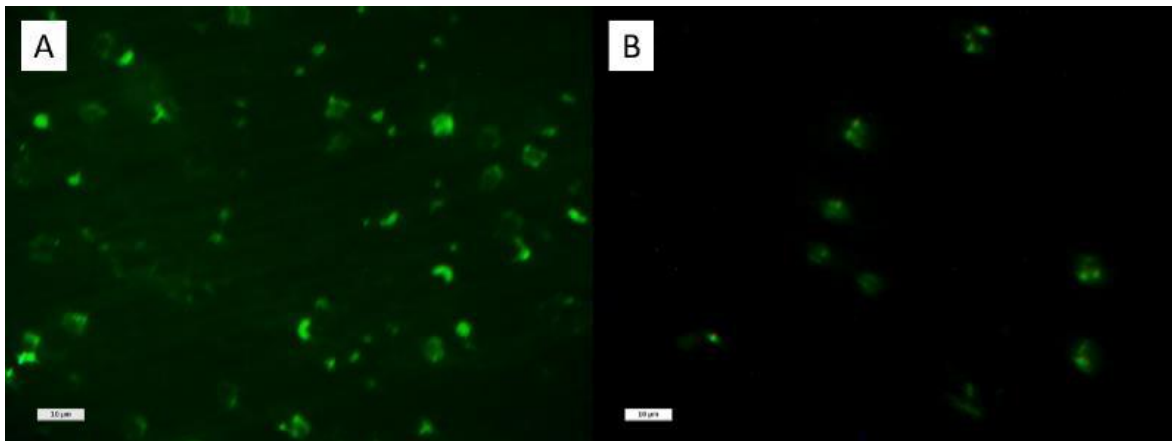


Figura 1. Localización de los anticuerpos anti MSA-1 (A) y anti RAP-1(B), en *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, respectivamente, mediante inmunofluorescencia indirecta.

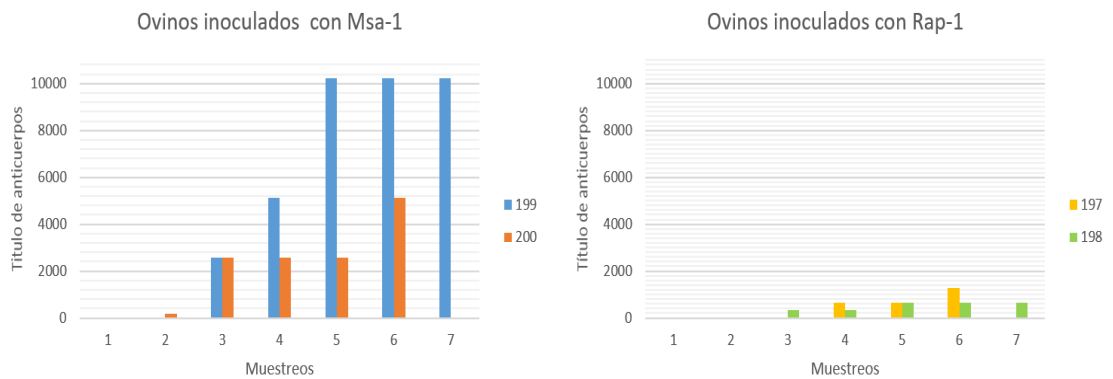


Figura 2. Título de anticuerpos anti MSA-1 y anti RAP-1, a lo largo del experimento, utilizando la técnica de IFI.

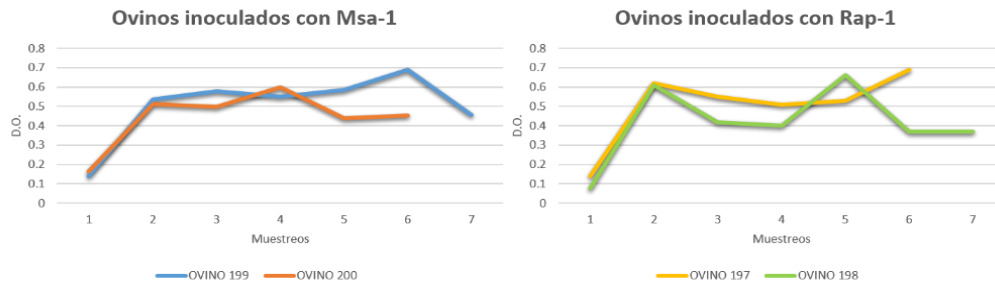


Figura 3. Cinética de anticuerpos IgG de ovinos anti MSA-1 y anti RAP-1, utilizando la técnica de iELISA.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Conclusión

Las proteínas resultaron ser antigénicas para los ovinos, de tal forma que al evaluar los distintos muestreos de sueros colectados a lo largo del trabajo mostraron reconocimiento con los antígenos tanto nativo como recombinante, lo cual permitirá utilizar las proteínas recombinantes MSA-1 y RAP-1 como antígenos para el desarrollo de innovadoras pruebas de diagnóstico en la babesiosis bovina.

### Implicaciones

Al demostrar un inmunocomplejo entre los anticuerpos anti MSA-1 y anti RAP-1, con el antígeno recombinante y nativo, aporta información indispensable para la continuación en los trabajos de investigación, principalmente para el desarrollo de pruebas de diagnóstico rápido de la babesiosis bovina.

### Fuente Financiadora

Trabajo financiado por el proyecto: Problemas Nacionales (CONACYT) 1336.

### Referencias bibliográficas

- Bautista GCR, Martínez IF. 2012. Experiences on the control of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Mexico. In: Ticks: Disease, management and control. Moges Woldemeskel editor. *Nova Science Publishers, Inc.* pp. 205-216.
- Bock RE, Jackson L, de Vos AJ, Jorgensen W. 2004. Babesiosis of cattle. *Vet Parasitol.* (4):247-269.
- Cantó AGJ, Rojas EE, Álvarez JA, Ramos JA, Mosqueda JJ, Vega CA, Figueroa JV. 2003. Protección contra babesiosis con una vacuna mixta de *B. bovis* y *B. bigemina* derivada de cultivo in vitro en una confrontación de campo. II Inmunización en un área endémica. *Téc. Pecu Méx* 4(3):307-315.
- Cantú CA, García VZS, 2013. Estrategias para el control integrado de garrapata (*Boophilus spp*) en la producción de bovinos de carne en pastoreo en Tamaulipas. Folleto Técnico No. MX-0-310402-43-03-14-09-36, pp. 1-37.
- Figueroa JV, Lira JJ, Vargas P, Rojas C, Alvarez JA. 2017. Cloning and sequencing of the rap-1 $\alpha$ 1 gene from Mexican isolates of *Babesia bigemina*. *Vet Sci Technol* 2017, 8:4(Suppl), p. 86.
- Figueroa JV, Cantó GJ, Álvarez JA, Rocio LG, Ramos JA, Vega CA. 1998. Capacidad Protectora en bovinos de una cepa de *Babesia bigemina* derivada del cultivo in vitro. *Téc Pecu Méx.* 36(2): 95-100.
- Florin CM, Suarez CE, Rodriguez AE, Flores DA, Schnittger L. 2014. Vaccines against bovine babesiosis: where we are now and possible roads ahead, *Vet Parasitol* 149(12):1563–1592.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE LOS ANTÍGENOS RECOMBINANTES RAP-1 Y 12D3 DE *Babesia bigemina* PARA EL INMUNODIAGNÓSTICO DE LA BABESIOSIS BOVINA

### EVALUATION OF RECOMBINANT ANTIGENS RAP-1 and 12D3 OF *Babesia bigemina* FOR IMMUNODIAGNOSIS OF BOVINE BABESIOSIS

Palacios MJM<sup>1</sup>, Lira AJJ<sup>2\*</sup>, Santamaria ERM<sup>2</sup>, Figueroa MJV<sup>2</sup>, Ojeda CJJ<sup>1</sup>, Vargas UP<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México. Centro Universitario Amecameca.

<sup>2</sup>CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP.

lira.juan@inifap.gob.mx

Palabras clave: *Babesia*, inmunodiagnóstico, antígenos

#### Introducción

La babesiosis bovina es una enfermedad transmitida por garrapatas y causada por protozoarios intraeritrocíticos del género *Babesia*, en México las especies de mayor importancia económica son *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*. La distribución de la babesiosis bovina se encuentra delimitada por la presencia del vector, la garrapata *Rhipicephalus microplus* en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Bock, 2004). Los bovinos infectados clínicamente pueden presentar fiebre  $\geq 41^{\circ}\text{C}$ , postración, anemia hemolítica, anorexia, hemoglobinuria, signología nerviosa y de manera esporádica muerte súbita (Figueroa y Álvarez, 2003). El método tradicionalmente utilizado para la identificación de los protozoarios en animales infectados es mediante el examen microscópico de frotis finos y gruesos de sangre teñidos con Giemsa, es un método adecuado para la diferenciación de especies (basada en el tamaño y características morfológicas de *B. bovis* o *B. bigemina*) en los bovinos infectados, particularmente en la detección de infecciones durante la fase aguda de la enfermedad (Bock, 2008). La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) actualmente sigue siendo empleada para diversos estudios epidemiológicos, con esta prueba es posible detectar anticuerpos específicos circulantes en el suero de bovinos expuestos a la transmisión natural de *B. bovis* y/o *B. bigemina*, la IFI es considerada como la prueba "estándar de oro" para el inmunodiagnóstico de la babesiosis (Bautista *et al.*, 2012). Dicha prueba resulta ser altamente sensible y específica; sin embargo, la prueba IFI presenta ciertas desventajas, entre ellas elevada subjetividad. La babesiosis bovina es considerada una de las enfermedades que causan grandes pérdidas económicas para la ganadería, estas pérdidas se deben principalmente a la disminución en la producción de leche y ganancia diaria de peso en los animales infectados, además de los altos costos para el tratamiento de los animales enfermos y para el control del vector. En México, la ganadería bovina asciende a más de 32 millones de cabezas, de las cuales se ha estimado que el 70% se desarrolla en las regiones tropicales y subtropicales del país consideradas de alta incidencia de la garrapata vector, lo que representa un grave problema para la ganadería debido al riesgo para la aparición de brotes de babesiosis bovina en estas regiones. En los últimos años, diversos estudios realizados han permitido la identificación de múltiples antígenos de *B. bigemina* con gran potencial para el inmunodiagnóstico de la babesiosis (Wright *et al.*, 1992). Debido a la falta de un método que pueda ser empleado como una alternativa de la prueba de IFI, es necesaria la implementación de nuevas pruebas inmunodiagnósticas más efectivas, específicas y que además faciliten la interpretación de los resultados cuando la cantidad de muestras sea muy elevada. El objetivo del



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

presente trabajo consistió en evaluar los antígenos recombinantes 12D3 y RAP-1 de *Babesia bigemina* empleando la prueba inmunoenzimática indirecta (iELISA) para el inmunodiagnóstico de la babesiosis bovina.

### Materiales y métodos

Muestras de suero. Para este trabajo fueron utilizadas muestras de referencia pertenecientes al banco de sueros de la Unidad de Babesiosis del CENID-SAI, 60 sueros obtenidos de bovinos provenientes de una zona libre de garrapatas y clasificados como negativos para *Babesia* spp. y 36 sueros clasificados como positivos obtenidos a partir de bovinos expuestos a *B. bigemina*.

Obtención de antígenos recombinantes. La extracción y purificación de ADN genómico se realizó a partir de eritrocitos infectados con *B. bigemina* derivados del cultivo *in vitro* mediante procedimientos de lisis con saponina/proteinasa K y utilizando columnas de sílice (Ultra Clean Blood DNA Isolation Kit, MOBIO Laboratories). El ADN genómico obtenido sirvió como templado para la amplificación por PCR de los genes codificantes para los antígenos RAP-1 (840 pb) y 12D3 (798 pb) de *B. bigemina* utilizando oligonucleótidos específicos. Los productos de amplificación obtenidos por PCR fueron purificados (Wizard Plus SV PCR DNA Purification System, Promega) y posteriormente clonados en el vector de expresión comercial pBAD-Thio TOPO (Invitrogen), para la transformación se emplearon células competentes Top 10 de *Escherichia coli*. Las células transformadas fueron sembradas en placas con medio LB agar con antibiótico como marcador de selección y se dejaron incubar 18 horas a 37°C, después de este tiempo se realizó un subcultivo inoculando células de *E. coli* en medio LB con ampicilina y dejando incubar 18 horas a 37°C. Para la inducción de la expresión de los antígenos se utilizó arabinosa al 20%. La purificación de los antígenos recombinantes se realizó por cromatografía de afinidad empleando columnas con resina acoplada a níquel Ni-NTA (Pro-Bond Purification System ThermoFisher Scientific), finalmente todas las fracciones eluidas fueron analizadas por SDS-PAGE (Arévalo *et al.*, 2008).

Prueba de IFI. Para la detección de anticuerpos circulantes anti-*B. bigemina*, se utilizaron laminillas con eritrocitos infectados como antígeno y se incubaron con las muestras de suero (dilución 1:80) dentro de una cámara húmeda durante 30 minutos a 37°C, como segundo anticuerpo se empleó suero de cabra anti-IgG de bovino conjugado con Alexa 488. Los lavados de las laminillas se realizaron en agitación con solución salina amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (SSAF) y con agua destilada después de cada incubación, respectivamente. Por último, se dejaron secar las laminillas y se observaron en un microscopio de epifluorescencia (Bautista *et al.*, 2012).

Prueba inmunoenzimática indirecta (iELISA). Se utilizaron placas de poliestireno de 96 pozos previamente sensibilizadas con los antígenos recombinantes RAP-1 y 12D3 de *B. bigemina* (60 ng/pozo), a las cuales se les realizó una serie de lavados y un bloqueo con leche descremada como fuente de caseína al 5%. En cada pozo se colocaron 50 µl de las muestras de suero (dilución 1:200) dejándose incubar las muestras durante 60 minutos a 37°C, posteriormente se les realizaron 3 lavados a las placas con solución de lavado (PBS-Tween 20 al 0.01%), enseguida a cada pozo se agregaron 50 µl de suero anti-IgG de bovino conjugado con peroxidasa de rábano picante (dilución 1:10000) y se dejó incubar durante 30 minutos, al término de la incubación se les realizaron 3 lavados a las placas con solución de lavado (PBS-Tween 20 al 0.01%). Finalmente, se agregaron a cada



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

pozo 50 µl del sustrato Tetrametil-Bencidina (TMB) y se incubaron las placas durante 30 minutos a 37°C. El cálculo de la densidad óptica (DO) de las muestras se realizó en un lector de microplacas (Bio-Rad iMark) a 650 nm de longitud de onda. Se estableció el punto de corte para ambos antígenos recombinantes como el promedio de la DO de los sueros negativos  $\pm 3$  desviaciones estándar.

Análisis estadístico. La evaluación de los antígenos recombinantes RAP-1 y 12D3 se realizó por estadística descriptiva mediante un cuadrado de contingencia 2x2, determinando las medidas estadísticas de sensibilidad (S) y especificidad epidemiológica (E), así como los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) utilizando las siguientes formulas:  $S = (\text{verdaderos positivos} / \text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}) (100)$ ;  $\text{Especificidad} = (\text{verdaderos negativos} / \text{falsos positivos} + \text{verdaderos negativos}) (100)$ ;  $VPP = \text{verdaderos positivos} / \text{verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}$ ;  $VPN = \text{verdaderos negativos} / \text{falsos negativos} + \text{verdaderos negativos}$ . La fuerza de concordancia se determinó en base al índice kappa ( $\kappa$ ) utilizando también un cuadrado de contingencia 2x2 con la siguiente formula:  $k = Po - Pe / 1 - Pe$ . La interpretación cualitativa del índice kappa se calificó de acuerdo a los criterios propuestos (Landis y Koch, 1977).

### Resultados y discusión

De las 96 muestras de referencia que fueron evaluadas mediante iELISA e IFI, los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 1. La prueba de iELISA detectó 5 falsos positivos para el antígeno recombinante RAP-1 y 6 para 12D3, mientras que la prueba IFI únicamente detectó 3. Estos resultados determinan que la especificidad para el antígeno recombinante RAP-1 sea del 91.6% y del 90% para 12D3. En cuanto a la sensibilidad, los resultados fueron del 94.4% para RAP-1 y 88.8% para 12D3.

Cuadro 1. Especificidad, sensibilidad, valor predictivo positivo y negativo de las pruebas de ELISA e IFI para la detección de anticuerpos (IgG) contra *Babesia bigemina*.

	+	-	<b>Sensibilidad (%)</b>	<b>Especificidad (%)</b>	<b>VPP (%)</b>	<b>VPN (%)</b>
iELISA (RAP-1)	39	57	94.4	91.6	87.1	96.4
iELISA (12D3)	38	58	88.8	90	84.2	93.1
IFI	35	61	88.8	95	91.4	93.4

+ = número de muestras de suero positivas

- = número de muestras de suero negativas

VPP = Valor predictivo positivo

VPN = Valor predictivo negativo

Para este trabajo aumentó el porcentaje de sensibilidad diagnóstica del 90% a 94.4% y disminuyó el porcentaje de especificidad siendo este de 93.7% a 91.6% en comparación con las características reportadas anteriormente cuando también se utilizó el antígeno recombinante RAP-1 de *B. bigemina* (Balbuena *et al.*, 2010). En cuanto al valor predictivo positivo (VPP) también se incrementó del 84.3% a 87.1%, mientras que el valor predictivo negativo (VPN) mostró un ligero incremento del 96.1% al 96.4% (Balbuena *et al.*, 2010). Debido al alto grado de conservación en la secuencia nucleotídica del antígeno 12D3 *B. bigemina* en diferentes aislados mexicanos de *B. bigemina* (Lira *et al.*, 2017), se sugirió su inclusión para este trabajo debido al potencial inmunodiagnóstico que presenta este antígeno, mostrando al igual que RAP-1 buenos resultados en cuanto a especificidad. Sin embargo,



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

la sensibilidad mostrada (88.8%) fue menor en comparación con RAP-1 (94.4%). De manera reciente el antígeno recombinante 12D3 fue probado junto a otros antígenos como candidatos vacunales, sin que se haya demostrado su eficacia inmunoprotectora contra la babesiosis bovina (Reyes *et al.*, 2016). La fuerza de concordancia fue casi perfecta para ambos antígenos recombinantes RAP-1 (0.89) y 12D3 (0.91) de acuerdo a los criterios propuestos (Landis y Koch, 1977) (Cuadro 2 y 3), estos resultados arrojan que ambos antígenos son confiables para el inmunodiagnóstico de la babesiosis bovina. La utilización de antígenos recombinantes de *B. bigemina* para el inmunodiagnóstico mediante la prueba de iELISA ya ha sido implementada en algunos estudios epidemiológicos mostrando buenos resultados, sobre todo de sensibilidad y especificidad, cuyos valores son mayores al 90%.

Cuadro 2. Cuadrado de contingencia 2x2 para la determinación del índice de concordancia kappa ( $\kappa$ ) entre las pruebas de IFI e iELISA utilizando el antígeno recombinante RAP-1.

		Prueba IFI		Total
		+	-	
Prueba iELISA (RAP-1)	+	35	2	37
	-	2	57	59
Total		37	59	96

Cuadro 3. Cuadrado de contingencia 2x2 para la determinación del índice de concordancia kappa ( $\kappa$ ) entre las pruebas de IFI e iELISA utilizando el antígeno recombinante 12D3.

		Prueba IFI		Total
		+	-	
Prueba iELISA (12D3)	+	35	2	37
	-	1	58	59
Total		36	60	96

### Conclusiones

La fuerza de concordancia de casi perfecta para ambos antígenos recombinantes RAP-1 (0.89) y 12D3 (0.91) de acuerdo a los criterios propuestos, arrojó que ambos antígenos son confiables para el inmunodiagnóstico de la babesiosis bovina. Sin embargo, el antígeno recombinante RAP-1 presentó mayor sensibilidad (94.4%) y especificidad (91.6%) en comparación con el antígeno recombinante 12D3. Al revelar la confiabilidad y validez, se concluye que el antígeno recombinante RAP-1 tiene gran potencial para su inclusión en la prueba inmunoenzimática indirecta (iELISA) para el inmunodiagnóstico en bovinos expuestos a la infección por *B. bigemina* o para hacer el seguimiento de títulos de anticuerpos inducidos en animales inmunizados con el antígeno recombinante de RAP-1. El uso de un método semiautomatizado en estudios seroepidemiológicos como la iELISA es factible, ya que permitiría procesar un número elevado de muestras al mismo tiempo.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Implicaciones

La utilización del antígeno recombinante RAP-1 de *B. bigemina* en la prueba iELISA podría ser utilizado en futuros estudios epidemiológicos para el inmunodiagnóstico de la babesiosis bovina, lo que contribuiría al desarrollo de nuevas estrategias para el control y/o prevención de esta enfermedad.

### Agradecimientos

Trabajo parcialmente financiado con recursos del CONACYT, Problemas Nacionales 2015, proyecto No. 1336.

### Referencias bibliográficas

- Arévalo, A.B., Borgonio, C.V., Rojas, M.C., Pérez, R.J.J., Álvarez, M.J.A., Figueroa, M.J.V. 2008. Clonación y Expresión en *Escherichia coli* de RAP-1a, GP45 y 12D3: proteínas de *Babesia bigemina* con potencial uso en prueba diagnóstica. Memoria del XXI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Guadalajara, Jal. Del 12 al 16 de octubre 2008, 1219-1225.
- Balbuena, G.Y., Vargas, U.P., Arévalo, A.B., Álvarez, M.J.A., Rojas, M.C., Figueroa, M.J.V. 2010. Instrumentación de una prueba de ELISA para identificar animales expuestos a infección por *Babesia bigemina*. In: *Memorias XXXIV Congreso Nacional de Buiatría*, 418-423.
- Bautista, G.C.R., Lozano, R.A., Alvarez, M.J.A., Rojas, M.C., Figueroa, J.V. Díaz, L.M., García, R.V.G. 2016. Activación *in vitro* de monocitos de bovino con *Lactobacillus casei*: producción de óxido nítrico. *Ecosistemas recur. agropecuarios*. 3(8): 237-242.
- Bock, R., Jackson, J., de vos, A., Jorgensen, W. 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitol.* 129: 247-269.
- Bock, R., Jackson, J., de vos, A., Jorgensen, W. 2008. Babesiosis of cattle. En: Browman A.S., Nuttall P.A. (eds). *Ticks Biology Disease and Control*. Cambridge University Press, New York, 281-307.
- Figueroa, M.J.V., Álvarez, J.A. 2003. Investigaciones sobre la aplicación de técnicas moleculares en el diagnóstico y control de la babesiosis bovina. *Cienc. Vet.* 9: 75-103.
- Landis, J.R., Koch, G.G. 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 33:159-74.
- Lira, A.J.J., Vargas, U.P., Pérez, J.D., Rojas, M.C., Álvarez, M.J.A., Figueroa, M.J.V. Conservación de la secuencia del gen ortólogo del antígeno 12D3 de *Babesia bigemina* en aislados mexicanos. 2017. *Memorias de la LIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*, 594-595.
- Reyes, S.R.M., Bautista, G.C.R., Castañeda, A.R.O, Vargas, U.P., Alvarez, J.A., Rojas, C., Mejía, E.F., Figueroa, J.V. 2016. Babesiosis: Field assessment of protection in cattle immunized with a mixture of *Babesia bovis* recombinant proteins. *Quehacer Científico en Chiapas* 11(2): 36-46.
- Wright, I.G., Casu, R., Commins, M.A., Dalrymple, B.P., Gale, K.R., Goodger, B.V., Riddles, P.W., Waltisbuhl, D.J., Abetz, I., Berrie, D.A. 1992. The development of a recombinant *Babesia* vaccine. *Vet. Parasitol.* 44: 3-13.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL ANTÍGENO DE MEMBRANA APICAL 1 (AMA-1) DE *Babesia vogeli*: RESULTADOS PRELIMINARES

## MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE APICAL MEMBRANE ANTIGEN 1 (AMA-1) FROM *Babesia vogeli*: PRELIMINARY RESULTS

Pavón RAJ<sup>\*1,2</sup>, Carvajal GBI<sup>2</sup>, Vega MCA<sup>3</sup>, Zambrano EX<sup>3</sup>, Mercado UMA<sup>2</sup>, Mosqueda J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>2</sup>Laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>3</sup>Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.  
joel.mosqueda@uaq.mx

Palabras clave: *Babesia vogeli*, AMA-1, Babesiosis canina.

### Resumen

La babesiosis canina es una enfermedad causada por hemoprotozoarios del género *Babesia*. *Babesia vogeli* es la especie de piroplasma presente en los caninos de México. El mecanismo de invasión de *Babesia* al eritrocito es muy similar al de otros microorganismos Apicomplexa; estos utilizan una serie de proteínas posicionadas en el polo apical para lograr ingresar a la célula blanco. La proteína AMA-1 (antígeno de la membrana apical 1) es secretada por las micronemas durante la invasión del parásito a los eritrocitos. AMA-1 permite la unión estrecha entre la membrana del parásito y la membrana de la célula hospedera, así como la formación de una membrana vacuolar parasitófora. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el gen que codifica a la proteína AMA-1 de *B. vogeli*. Para esto se extrajo ADN genómico de sangre de un canino experimentalmente infectado con una cepa de *B. vogeli*. Para realizar la amplificación se utilizó un set de iniciadores degenerados publicados por Tarigo *et al.* (2019), y un protocolo de PCR modificado. El producto de PCR se analizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%, obteniendo un amplicón de aproximadamente 870 pb. Posteriormente, se procedió a purificar el producto de PCR y se envió a secuenciar de forma comercial en ambas direcciones. El análisis BLAST de la secuencia consenso obtenida mostró diversos porcentajes de identidad con secuencias reportadas del gen AMA-1 de otras especies de *Babesia*, como *B. gibsoni* y *B. divergens* (89%), *B. bovis* (78%), *B. ovata* y *B. bigemina* (70%) y *B. orientalis* (63%). En conclusión, se obtuvo por primera vez la secuencia parcial del gen AMA-1 de *Babesia vogeli*; sin embargo, más experimentos son requeridos para poder comprobar su potencial uso como antígeno de diagnóstico o vacunal, para el control de la babesiosis canina causada por *Babesia vogeli*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## DETECCIÓN DE *Neospora caninum* POR PCR EN LEUCOCITOS DE VACAS LECHERAS DEL SISTEMA FAMILIAR

### DETECTION OF *Neospora caninum* BY PCR IN LEUCOCYTES OF DAIRY COWS IN THE FAMILY SYSTEM

Reyes SRM\*<sup>1</sup>, Ojeda CJJ<sup>2</sup>

\*<sup>1</sup> Doctorado en Ciencias agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
Universidad <sup>2</sup> Centro Universitario UAEM Amecameca, Universidad Autónoma del Estado de  
México.  
Veracruzana. popoxthla1@hotmail.com

Palabras clave: *Neospora caninum*, PCR, leche.

#### Introducción.

En México los sistemas de producción lechera se clasifican de la siguiente forma: especializado, encontrado en el centro norte del país; doble propósito, llevado a cabo en las regiones tropicales o costeras y por último, familiar ubicado en el altiplano central mexicano, éste se caracteriza por depender de mano de obra familiar en la que participan todos los integrantes; además de contar con nula tecnología debido al bajo nivel de educación de los productores, también se caracteriza por contar con pequeñas superficies de tierra sembradas por la familia para proveer alimento al hato; esta alimentación se basa en rastrojo de maíz o avena además del pastoreo en praderas con pastos nativos, el hato puede variar en número, teniendo de tres a 35 animales en producción más la cría; además depende de la compra de insumos para la elaboración de dietas o de la compra de alimentos comerciales siendo ésta la principal inversión monetaria en este sistema. Otra característica del sistema familiar es su gran capacidad de adaptación a los cambios lo que lo ha convertido en una buena opción para el desarrollo rural. Este sistema es una fuente de empleo y generación de ingresos para una mejor calidad de vida las familias, así como detonante económico regional y la principal vía para la cadena de transformación lechera, contribuyendo a reducir la migración, dicho sistema aporta el 28% de la producción nacional, sin embargo, el sistema de producción lechero familiar se encuentra amenazado por factores que aminoran su funcionalidad como el manejo inadecuado, la malnutrición y las enfermedades metabólicas e infecciosas (Espinoza-Ortega *et al.*, 2007). *Neospora caninum* es un parásito protozoario intracelular obligado, perteneciente al Phylum Apicomplexa y a la Familia *Sarcosistidae* que agrupa a otros protozoarios como *Hammondia heydorni* y *Toxoplasma gondii*, con el cual guarda una relación muy estrecha y a pesar de ser inmunológica y estructuralmente diferente, en el pasado fueron confundidos debido a su similitud morfológica y presentación clínica. *N. caninum* es el agente causal de la neosporosis bovina, enfermedad que puede causar abortos entre el tercer y noveno mes de gestación, reabsorción embrionaria, muerte fetal, mortinatos y muerte neonatal, provocando un efecto negativo en diferentes parámetros reproductivos y en la producción de leche, lo que predispone al desecho prematuro de vacas. Diversos estudios en vacas del sistema intensivo, han demostrado que la seropositividad al parásito está asociada con la disminución de la producción láctea (Hernández *et al.*, 2001), las pérdidas económicas se calculan en alrededor de 100 dólares por infección o aborto relacionado a *N. caninum* en el sistema lechero intensivo, aunado a las pérdidas, se ha reportado aumento en la



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

probabilidad de que las vacas seropositivas puedan sufrir aborto entre 3 y 27 veces (Reichel *et al.*, 2013).

La detección de anticuerpos específicos contra *N. caninum* es un buen indicador de la exposición al parásito, la inmunofluorescencia indirecta (IFI), la prueba de aglutinación, el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y el inmunoblot han sido empleados con este fin, sin embargo, la identificación de anticuerpos no necesariamente indica la presencia del parásito al momento de la toma de muestras, ninguna de éstas pruebas puede detectar la infección en fetos y la especificidad y sensibilidad diagnóstica de las mismas puede variar (Almería, 2013). En contraparte, la prueba de diagnóstico directo Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con sensibilidad y especificidad elevadas, tiene la capacidad de amplificar el ADN de *N. caninum* en tejidos de fetos abortados, animales adultos, fluidos corporales como líquido amniótico, cefalorraquídeo, sangre, leche y semen. Aun, cuando este tipo de prueba ofrece grandes posibilidades para el diagnóstico, el procedimiento enfrenta limitantes asociadas a la dificultad para obtener los fetos abortados en buen estado o tejidos que solo pueden ser obtenidos posmortem (Yao *et al.*, 2009). Además, la baja concentración de parásitos en dichos tejidos, o en fluidos como semen y leche, hacen que la búsqueda de ADN de *N. caninum* en sangre sea una buena opción para el diagnóstico de la neosporosis antemortem (Okeoma *et al.*, 2004). El gen repetitivo específico Nc-5 y el espaciador de transcripción interno (ITS1) son los marcadores más utilizados para la detección de *N. caninum* con PCR, y se ha reportado la detección de ADN del parásito en la fracción de células blancas de la sangre de vacas seropositivas (Okeoma *et al.*, 2004), así como en suero de animales seronegativos y seropositivos (Mc Innes *et al.*, 2006). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue estimar la frecuencia mediante ELISA y detectar ADN de *N. caninum* por medio de PCR anidada en leucocitos de vacas del sistema de producción lechera familiar.

### Material y métodos.

El estudio se llevó a cabo en el municipio de Amecameca, Estado de México, a 2400 msnm, cuenta con clima templado subhúmedo Cb (w2) y precipitación de 935 mm anuales, en un hato característico del sistema familiar de producción láctea con historial de abortos, en vacas de fenotipo Holstein. El ordeño se realiza de forma mecánica dos veces al día, la dieta fue basada en ensilado de maíz, forraje de alfalfa, heno de avena, alimento balanceado comercial con 18 % de proteína cruda y pastoreo en praderas artificiales de alfalfa, la presencia de otras especies como aves, cerdos, caballos, ratas fue observada dentro del hato y no se permite la entrada de caninos. El manejo reproductivo se realizó sin modificar el protocolo habitual mediante inseminación artificial, con respecto al manejo preventivo, se aplica un programa de vacunación desde 2012, inmunizando contra agentes etiológicos relacionados con la producción de aborto en bovinos. Se muestrearon 34 hembras en etapa reproductiva entre uno y siete partos, el seguimiento se realizó de marzo a julio de 2015. ELISA. Todas las hembras en producción fueron muestreadas al inicio del experimento por punción de la vena coccígea utilizando tubos al vacío sin anticoagulante. El suero fue obtenido mediante centrifugación a 1000 x g durante 15 minutos y conservado a -20 °C. Los sueros se emplearon para la detección de anticuerpos anti-*N. caninum* mediante ELISA empleando una prueba comercial (100 % de sensibilidad y 98.9 % de especificidad) con dilución 1:100 de cada suero problema y analizado por duplicado; la lectura se efectuó con un filtro de 650 nm, considerando 0.50 como punto de corte. PCR: se obtuvieron muestras sanguíneas de forma mensual de cada una de las vacas dentro del hato, iniciando a la par con la toma de muestra para ELISA, empleando tubos





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

al vacío con EDTA. Las muestras se centrifugaron a 1000 x g por 15 min para la separación de la capa flogística, la colección de leucocitos fue por aspiración con micropipeta y puntas estériles, posteriormente se conservaron a -20 °C. La extracción de ADN se realizó con paquete comercial. Para la primera reacción se utilizaron los iniciadores Np 21-4 que amplifican un fragmento de 380 pares de pb del Gen Nc-5 (Yamaga *et al.*, 1996). La mezcla contenía 12.5 µL de mezcla maestra, 1 µL de cada iniciador (10 µM), 2.5 µL de agua libre de nucleasas y 8 µL de ADN blanco para un volumen final de 25 µL. Las condiciones de ciclado fueron: 5 min a 95 °C, 1 min a 94 °C, 1 min a 57 °C, 1 min a 72 °C (35 ciclos), y 7 min a 72 °C. En la PCR anidada, los iniciadores Np 9-10 que amplifican un fragmento de 224 pb (Mc Innes *et al.*, 2006). La mezcla de reacción contenía 12.5 µL de mezcla maestra, 1 µL de cada iniciador (10 µM), 5.5 µL de agua libre de nucleasas y 5 µL del producto de la PCR sencilla para un volumen final de 25 µL, empleando el siguiente protocolo de ciclado: 5 min a 94 °C; 30 s a 94 °C, 20 s a 63 °C, 30 s a 72 °C (35 ciclos) y 10 min a 72 °C (Yao *et al.*, 2009). Los productos se separaron en geles de agarosa al 2.5 % teñidos con bromuro de etidio, visualizados bajo luz ultravioleta, con un marcador de peso molecular de 100 pb. El control positivo fueron taquizoitos de *N. caninum* extraídos de placas comerciales de IFI, en el caso del control negativo agua libre de nucleasas. En el periodo de estudio se registraron dos abortos, solo el último se pudo recuperar de forma adecuada, de éste se procesaron dos muestras de diferentes zonas del cerebro y fueron analizadas con los protocolos antes descritos. Secuenciación: Para la purificación de los productos de la PCR se recurrió al uso del paquete comercial. Cuatro muestras de leucocitos y una de encéfalo positivas a la PCR sencilla se seleccionaron para secuenciación automatizada y posterior comparación con lo publicado en el Genbank con la herramienta BLAST del NCBI para corroborar la detección del agente. Análisis estadístico: La concordancia entre las pruebas de ELISA y PCR al inicio del estudio se calculó con la prueba Kappa. Para el análisis de los datos, los animales se agruparon de acuerdo al estatus serológico, a la detección de ADN de *N. caninum* en leucocitos y organizados por mes de gestación o vacas sin preñez en su caso, así como las que parieron durante el estudio, además de estimar la frecuencia mensual y por trimestre de gestación.

### Resultados y discusión.

Se estimó una frecuencia de 85.3% a *N. caninum* al inicio del estudio con ELISA. A nivel internacional las seroprevalencias reportadas para *N. caninum* son de 0.5 % en Suecia, 46.9 % en Tailandia y de 49.2 % en los Estados Unidos, para sistemas de producción de leche intensivos (Reichel *et al.*, 2013), el único reporte en el sistema familiar es de 28.8 % en Uruguay; mientras que en el ámbito nacional las prevalencias por serología oscilan entre 16 y 72%. En tanto que, para el sistema familiar se reportó seroprevalencia de 51.7 %, lo que indica que más de la mitad de la población ha tenido contacto con *N. caninum*.

Fue posible amplificar ADN de *N. caninum* a partir de leucocitos de vacas infectadas naturalmente, el análisis de las secuencias demostraron la detección de *N. caninum* (Figura 1). Las frecuencias mensuales por PCR fueron de 55.8, 94.1, 100, 97.1 y 100% para los meses de marzo a julio, respectivamente, con promedio de 89.4%. Con respecto a la edad de gestación, los resultados se presentan en la Tabla 1. De las dos muestras de cerebro del feto, una fue positiva por PCR y su análisis de secuencia reflejó un 96% de similitud con la secuencia del Genbank (No. de acceso KF649848.1). Cuatro amplicones derivados del ADN de leucocitos se secuenciaron y tuvieron de 91 a 96 % de similitud con lo publicado (KF649848.1, AY665719.1). Los resultados de la PCR refuerzan la hipótesis de Okeoma *et al.* (2004) quienes sugieren que el fragmento de células blancas alberga



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

a los taquizoitos de *N. caninum* y los utilizan para distribuirse entre los tejidos que afectan, ya que los anticuerpos circulantes pueden eliminar al parásito. En México, estudios realizados a partir de sangre han permitido la identificación de ADN de *N. caninum* en vacas lecheras del sistema de producción intensivo, de ganado productor de carne y doble propósito, con prevalencias del 85, 28 y 33.3 %, respectivamente. Los iniciadores propuestos (Yamage *et al.*, 1999) no se han empleado en México; aunque se utilizan de forma amplia en otros países para la detección del parásito en muestras de tejido y en suero (Mc Innes *et al.*, 2006), estos iniciadores pueden ser empleados para la amplificación de ADN a partir de leucocitos de vacas infectadas y de tejidos de fetos abortados; al respecto, se considera que la reacción anidada de PCR aumenta la sensibilidad de la prueba (Yao *et al.*, 2009); mientras que la PCR semianidada no lo hace cuando es empleado el gen Nc-5 (Baszler *et al.*, 1999). Por otra parte, algunos animales resultaron positivos a PCR pero negativos a ELISA y viceversa, los resultados negativos en ELISA pueden estar relacionados con una infección primaria temprana en la cual el sistema inmunológico aún no genera una respuesta, o fue de baja intensidad; por otro lado, resultados negativos de la PCR tampoco excluyen la infección por *N. caninum*, debido a la reducida cantidad de protozoarios circulantes en la sangre del hospedero y la etapa de infección o reinfección (Yao *et al.*, 2009). En estudios previos en vacas de primera gestación en sistema intensivo, se reportó una prevalencia del 35, 75 y 50% por tercio de gestación, difiriendo con lo encontrado en el presente estudio, que fue de 88, 88.9 y 87.9% por tercio correspondiente. El 100 % de las vacas que parieron durante el periodo de estudio tuvieron la presencia del parásito, debido posiblemente a la inmunosupresión que presenta la vaca asociada al momento del parto. Mientras que el 93.2 % de las vacas no preñadas fueron positivas por PCR. Se detectó ADN del parásito de forma intermitente en algunos animales, lo que implica que la parasitemia fluctúa a través del tiempo, posiblemente por acción inmunológica (Dubey *et al.*, 2007). Lo anterior sugiere que en el hato estudiado, se mantiene circulando *N. caninum* de forma continua, ya sea por transmisión vertical por mantenimiento de reemplazos persistentemente infectados, o bien de forma horizontal, por reinfección constante debida al consumo de forraje o agua contaminados. Con relación a los fetos, se ha descrito que el SNC es el tejido más comúnmente infectado, recomendando tomar muestras de diferentes lugares, debido a que la distribución de los quistes dentro de este tejido no es uniforme (Dubey *et al.* 2007); la muestra positiva por PCR demuestra la infección congénita dentro del hato.

El índice kappa demuestra que la presencia de anticuerpos no indica enfermedad o presencia del agente etiológico al momento del muestreo, ya que con la prueba ELISA se obtuvo una frecuencia de 85.3 % y con PCR del 55.8 %. Contrario a lo realizado por Yao *et al.* (2009), en el presente estudio fue posible detectar una elevada presencia del parásito en sangre de vacas infectadas de forma natural, lo que se puede atribuir a la muestra elegida en el estudio, ya que el uso de sangre completa coagulada reduce la probabilidad de que la muestra contenga un número considerable de células de la cuenta blanca, al igual que cuando se emplea sangre completa para la extracción de ADN.

### Conclusiones.

El uso de leucocitos de vacas infectadas naturalmente incrementa la probabilidad de detectar ADN de *N. caninum* por PCR anidada con los iniciadores propuestos. Los oligos empleados en este estudio pueden ser utilizados para la detección de ADN de *N. caninum* en sangre y tejidos fetales con resultados aceptables.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

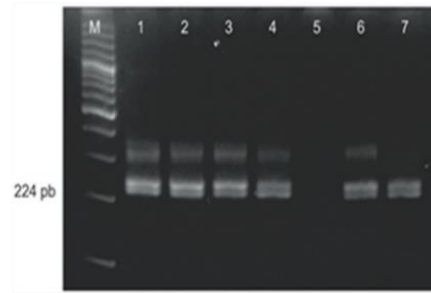


Figura 1. Productos amplificados por PCR anidado con iniciadores Np9 y Np10 de *N. caninum*. Carriles: M) marcador molecular de 100 pb. 1 y 2) Control positivo (taquizoitos). 3) encéfalo de feto. 4) vaca 16. 5) Control negativo. 6) vaca 17. 7) vaca 26.

Tabla 1. Prevalencia de *Neospora caninum* por trimestre de gestación en leucocitos de vacas naturalmente infectadas del SPLPE mediante PCR anidada.

Tercio de la gestación	1°.			2°.			3er			vacía	Parto	
	Mes de gestación	1	2	3	4	5	6	7	8			9
PCR positivas		13	16	15	13	14	13	11	10	6	41	9
%		86.7	84.2	93.7	86.7	87.5	92.8	100	90.1	66.6	93.2	100
Total		15	19	16	15	16	14	11	11	9	44	9
% Trimestral		88.0			88.9			87.9			93.2	100

## Referencias bibliográficas

- Almería S. (2013) *Neospora caninum* and wild life. Hindawi Publishing Corporation. ISRN Parasitology. Article ID 947347: 1-23.
- Baszler TB, Lawrence JC, Maureen TL, and Bruce AM. (1999) Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. *Journal of the Clinical Microbiology* 37: 4059-4064.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. (2007) Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Journal of the Clinical Microbiology* 20: 323-367.
- Espinoza-Ortega A, Espinosa-Ayala E, Bastida-López J, Castañeda-Martínez T, Arriaga-Jordán CM. (2007) Small-Scale dairy farming in the highlands of central México: technical, economic and social aspects and their impact on poverty. *Experimental Agriculture* 43(1):39-65.
- Hernández JR, Risco C, Donovan A. (2001) Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *Journal of American Veterinary Medical Association* 219(5): 632-635.
- Mc Innes LR, Ryan LM, O\_Handley RO, Sager H, Fershaw D, Palmer DG. (2006) Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum. *Veterinary Parasitology* 142: 207-213.
- Okeoma CM, Williamson NB, Pomroy WE, Stowell KM, Gillespie L. (2004) The use of PCR to detect *Neospora caninum* DNA in the blood of naturally infected cows. *Veterinary Parasitology* 122: 307-315.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Reichel MP, Ayanequi-Alcérreca MA, Gondim LF, Ellis JT. (2013) What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. *International Journal for Parasitology* 43(2):133-142. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.10.022. Epub 2012 Dec 12. (Consultada en septiembre de 2016).
- Yamage M, Flechtner O, Gottstein B. (1996) *Neospora caninum* specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Parasitology* 825: 272-279.
- Yao L, Yang N, Liu Q, Wang M, Zhang W, Qian WF, et al. (2009) Detection of *Neospora caninum* in aborted bovine fetuses and dam blood samples by nested PCR and ELISA and seroprevalence in Beijing and Tianjin, China. *Parasitology* 136: 1251-1256.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE HEMOPARÁSITOS EN EQUINOS DE CULIACÁN SINALOA

## MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION OF HEMOPARÁSITOS IN EQUINES OF CULIACAN SINALOA

Zatarain IF<sup>1</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>, Castro delCN<sup>1</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>, Rodríguez GMA<sup>1</sup>, Pérez CJJ<sup>1</sup>, Urías  
CC<sup>1</sup>, López ACV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa  
enver@uas.edu.mx

Palabras Clave: *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., Equino.

### Introducción

El creciente desarrollo de las disciplinas deportivas equinas, obliga a procurar un estado sanitario óptimo de los equinos para su participación en justas deportivas; por lo que se debe de realizar revisiones clínicas continuas para poder identificar las potenciales patologías, que pudiesen alterar el desempeño de los ejemplares. Las pérdidas económicas asociadas con la enfermedad de estos incluyen los costos por tratamiento veterinario, la disminución en el desempeño y la muerte de los animales en casos agudos de la enfermedad, además de las restricciones internacionales para la exportación o la participación en eventos ecuestres deportivos y expositivos de animales seropositivos a *Babesia caballi* o *Theileria equi* (OIE,2014). Dentro de la medicina veterinaria, los estudios hematológicos son una herramienta para confirmar la presencia o ausencia de anomalías sanguíneas, delimitar la extensión general o local de un proceso, establecer las causas de una alteración sanguínea, servir de guía en el pronóstico de casos clínicos y hacer el seguimiento durante el tratamiento de animales enfermos, tanto machos como hembras, son susceptibles a enfermedades infecciosas y parasitarias que conducen a alteraciones hematológicas, entre las cuales se encuentran las infecciones por hemoparásitos, calificadas como problemas graves en más del 70% de los países en vía de desarrollo (Castellanos *et al.*, 2010). Los animales domésticos se encuentran expuestos a numerosos microorganismos tales como bacterias, virus, rickettsias, mycoplasmas, clamidias, hongos, metazoarios y protozoarios (Soulsby, 1987). Los hemoparásitos agrupan una gran cantidad de agentes etiológicos causantes de enfermedades de gran trascendencia para la salud animal y salud pública a nivel mundial, estos pueden ser transmitidos a los animales domésticos por vectores mecánicos y biológicos y su presencia en los animales domésticos produce cuadros hemáticos que afectan la salud animal (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2000).

### Objetivo

Identificar morfológicamente los hemoparásitos presentes en sangre de equinos.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Materiales y métodos

### Área de estudio

Todas las muestras de equinos eran pertenecientes al municipio de Culiacán, Sinaloa y se procesaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicado en Culiacán, Sinaloa, México, en las coordenadas 24° 48' latitud Norte y 107° 23' latitud Oeste, con una altura de 60 msnm, la temperatura media anual del estado es de 25°C, las temperaturas mínimas promedio son alrededor de 10.5°C en el mes de enero y las máximas promedio pueden ser mayores a 36°C durante los meses de mayo a julio; con 144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 790 mm, con lluvias en verano Julio a Septiembre, el clima de la región es tropical seco (INEGI, 2009).

Tipo de estudio: Se realizó un estudio descriptivo, transversal.

Recolección de muestras: Todas las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa en el periodo del 8 de enero del 2015 al 27 de mayo de 2019. Con un total de 573 muestras sanguíneas. Las muestras recabadas se clasificaron por año, así como por época del año.

### Análisis de laboratorio

Las muestras se procesaron por frotis sanguíneos los cuales se tiñeron mediante coloración de Wright y se examinaron para determinar la presencia de hemoparásitos. Se consideraron los parámetros morfológicos y biométricos que incluyen la forma, la ubicación del sitio y el tamaño del hemoparásito en cualquier eritrocito infectado. Este diagnóstico se basó en las características morfológicas y estructurales descritas para cada hemoparásito. En el caso de *Babesia* spp. se visualizaron, en el interior de los eritrocitos, cuerpos periformes unidos en pares por sus extremos posteriores formando un ángulo agudo entre sí (OIE, 2014). Para el caso de *Anaplasma* spp. se observaron cuerpos de inclusión o la mórula dentro del citoplasma de granulocitos (Madigan y Gribble 1987), ya que es el único microorganismo reportado que infecta neutrófilos y eosinófilos en esta especie.

### Análisis estadístico

Mediante el uso de tablas de frecuencia. Se consideró positivo a todo equino en el cual se observó formaciones intraeritrocíticas compatibles con *Babesia* spp. y/o *Anaplasma* spp.

## Resultados y discusión

Del total de las muestras analizadas se encontró que un 50.95% (292/573) de ellas presentaron formaciones intraeritrocíticas compatibles a hemoparásitos de los cuales el 32.63% correspondieron a *Babesia* spp. y el 18.32% a *Anaplasma* spp. Los resultados por año analizados se presentan en el cuadro 1, donde se observa que por año la mayor prevalencia se encontró en el 2015 y el año con la menor prevalencia fue 2018 resultados que pueden deberse al control de vectores en las cuadras por parte de los propietarios evitando así la transmisión de hemoparásitos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**Cuadro 1.** Prevalencia de hemopárasitos en muestras sanguíneas de equinos remitidas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia clasificada por año.

Año	Número de muestras	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	Hemoparásitos %
2015	120	63 (52.5%)	28 (23.3%)	75.83
2016	68	15 (22.05%)	29 (42.64%)	64.70
2017	102	34 (33.3%)	28 (27.45%)	60.78
2018	176	28 (15.90%)	13 (7.38%)	23.28
2019	107	47 (43.92%)	7 (6.54%)	50.46
<b>Total</b>	<b>573</b>	<b>187(32.63)</b>	<b>105(18.32%)</b>	<b>50.95</b>

Con respecto a la prevalencia por periodo del año cuadro 2, encontramos que las épocas de mayor prevalencia fueron primavera donde se observó que un 64.91% (74/114) de las muestras presentó hemopárasitos de las cuales el 38.59% (44/114) fue a *Babesia* spp. y 30.32% (30/114) a *Anaplasma* spp. seguida de invierno el cuál presentó un 62.83 % (93/148) de hemopárasitos 47.29% a *Babesia* spp. y un 15.54% a *Anaplasma* spp. posteriormente verano donde se presentó un 62.25% hemopárasitos 24.52% a *Babesia* spp. y 37.73% a *Anaplasma* spp. la época del año que presentó una menor prevalencia fue otoño con 32.94% de hemopárasito 20.93% a *Babesia* spp. y 12.01% a *Anaplasma* spp. La mayor presencia de hemopárasitos en época de primavera podría atribuirse a los cambios de temperaturas de un época a la otra ya que favorece el ciclo de los vectores, con respecto a la prevalencia de invierno se asoció a que esas fechas es cuando se realizan desfiles y concursos de baile de équidos en Culiacán, Sinaloa y ocurre un traslado de équidos de diferentes estados los cuales tienen convivencia en los eventos además, del estrés asociado que se les causa al participar en ellos el cual puede provocar subversión y desregulación de la respuesta inmune (Rikihisa, 2010).

**Cuadro 2.** Frecuencia de hemoparásitos en muestras sanguíneas de equinos remitidas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia clasificados época del año.

Periodo de muestreo 2015-2019				
Estaciones del año	No. de muestras	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	Hemoparásito %
<b>Primavera</b>	114	44 (38.59%)	30(30.32%)	68.91
<b>Verano</b>	53	13 (24.52%)	20 (37.73%)	62.25
<b>Otoño</b>	258	54 (20.93%)	31 (12.01%)	32.94
<b>Invierno</b>	148	70 (47.29%)	23 (15.54%)	62.83
<b>Total</b>	<b>573</b>	<b>181 (31.58%)</b>	<b>104 (18.15%)</b>	<b>49.73</b>

Encontrando así en el cuadro 3, los resultados obtenidos por cada año con su época y prevalencia de hemopárasito.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**Cuadro 3.** Prevalencia de hemoparásitos en muestras sanguíneas de equinos remitidas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Muestras positivas a *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. por año y época del año.

Estación del año	2015		2016		2017		2018		2019	
	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Babesia</i> spp.	<i>Anaplasma</i> spp.
Primavera	20	11	2	5	6	10	6	3	10	1
Verano	6	4	1	7	1	2	5	7	-	-
Otoño	16	10	4	10	23	10	11	1	-	-
Invierno	21	3	8	7	4	6	6	2	29	5
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>29</b>	<b>34</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>13</b>	<b>39</b>	<b>6</b>

En los estudios realizados en México, el estudio presentado por Rodríguez-Vivas *et al.*, (2000) en Yucatán en 79 de equinos con muestras remitidas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán en el periodo de 1984-1999 encontró una frecuencia de 3.79% (3/79) *Theileri equi* 2.53% (2/79) de *Babesia caballi* sus resultados difieren a los de este estudio en cual los resultados fueron de 18.32% (105/573) a *Anaplasma* spp. y 32.63% (187/573) a *Babesia* spp. a lo que los autores refieren sus bajos resultados es a que probablemente se debió al poco conocimiento de esta enfermedad por parte de los productores y veterinarios de campo, lo que se refleja en el bajo número de muestras que fueron enviadas al laboratorio para su análisis. Con respecto a estudios realizados en Sinaloa sobre hemoparásitos Gaxiola *et al.*, (2001) reportaron la prevalencia de hemoparásitos en equinos pertenecientes a Culiacán, Sinaloa encontrando una prevalencia de 33.33% (25/75) muestras positivas a hemoparásitos de los cuales se encontró que 24% (18/75) a *Babesia equi* 9.33% (7/75) para *Haemobartonella* spp. reportando a *Babesia equi* como el de mayor prevalencia lo que coincide con este estudio en el cual *Babesia* spp. fue el hemoparásito de mayor incidencia; con respecto al número total de muestras analizadas se debe a que el periodo de recolección fue más largo además de que cada año el cambio climático favorece la presencia de vectores, así como la concientización de médicos veterinarios de campo y propietarios que cada vez hacen más conciencia sobre el beneficio de muestreos continuos hacia sus equinos. En el estudio realizado por López *et al.*, (2013) en el cual se identificó *Anaplasma phagocytophilum* por PCR anidado en equinos de Culiacán, Sinaloa se analizó un total 138 muestras encontrando que en un 9.42% (13/138) de las muestras analizadas se encontraba presente *Anaplasma phagocytophilum* los resultados difieren de este estudio porque la técnica de diagnóstico que utilizaron fue más específica y sensible ya que es capaz de detectar *Anaplasma phagocytophilum* aunque esté no esté presente en frotis sanguíneo y en este estudio solo se basó en la identificación morfológica por frotis sanguíneos además de que su muestreo incluyó criterios de selección.

### Conclusión

Se concluye que la mayor prevalencia de hemoparásitos en equinos de Culiacán Sinaloa se observaron en épocas de primavera e invierno, *Babesia* y *Anaplasma* pueden representar un problema de salud animal, por lo que deben de establecerse planes y programas sanitarios a fin de garantizar mejores condiciones de salud y manejo que permitan el correcto funcionamiento fisiológico y una salud adecuada.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias Bibliográficas

- Castellanos, R., Canelón, J. L., Calzolaio, V., Aguinaco, F., López, Á., & Montesinos, R. 2010. Estudio hematológico y detección de hemoparásitos en caballos criollos venezolanos de dos hatos del Estado Apure, Venezuela. *Revista Científica*, 20(2), 153-160.
- Gaxiola, C.S.M., Borbolla, I.J.E., Rentería, G.R., Aguilar, B.R., Caro, P.F., Valenzuela, G.D., Veliz, F.A. Felix, R.F., Linares, A.D. 2001. Prevalencia de hemoparásitos en equinos del municipio de Culiacán, Sinaloa, México. V Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. Mazatlán, Sinaloa. Octubre del 2001. Pàg. 79.
- INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática, Censo Agrícola Ganadero y Forestal 2007. Consultado [16 de enero]. Disponible en <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/sin/clim.cfm?c=444&e=09>
- López, A. C. V., Gaxiola, C. S. M., Enríquez, V. I., Castro, D.N., Cota, G. S. C. 2013. Identificación de *Anaplasma phagocytophilum* por PCR anidado en equinos de Culiacán, Sinaloa (Tesis maestría). Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa.
- Madigan JE, Gribble DH. 1987. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968 – 1981). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190: 445 – 448.
- OIE TM. 2014. Equine piroplasmosis. NB: Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in. 2014:8.
- Rikihisa, Y., Lin, M., 2010. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* type IV secretion and Ank proteins. *Curr. Opin. Microbiol.* 13, 59–66.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Cob-Galera, L. A., & Domínguez-Alpizar, J. L. 2000. Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (1984-1999). *Revista biomédica*, 11(4), 277-282.
- Soulsby E.J.L. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a. ed. México: Interamericana; 1987. p. 729-39.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PRESENCIA DE *Cryptosporidium* spp EN EL AMBIENTE DE UN AREA DE RECRÍA DE GANADO LECHERO

### PRESENCE OF *Cryptosporidium* spp IN THE ENVIRONMENT OF A DAIRY CATTLE CALF AREA

Vitela MIV<sup>1</sup>, Ruiz CG<sup>1</sup>, Cruz VCR<sup>1</sup>, Ramos PM<sup>1</sup>, Campos VG<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, <sup>2</sup> Hospital Infantil de México Federico Gómez. [vitelairene@yahoo.com.mx](mailto:vitelairene@yahoo.com.mx)

Palabras clave: *Cryptosporidium*, prevalencia, bovinos.

#### Resumen

El objetivo de la investigación fue identificar la presencia y las especies de *Cryptosporidium*, en el área de recría de becerras de una unidad de producción lechera con reporte histórico de criptosporidiosis bovina endémica en Aguascalientes, México. Se tomaron por única ocasión, 60 muestras de heces correspondientes al mismo número de individuos de menos de 30 días de edad, además de muestras de agua de bebederos, agua de limpieza de pisos de sala de lactancia, tierra de pisos, superficies de contacto del área de lactancia y moscas presentes en las becerreras; las muestras fueron procesadas mediante frotis fecal teñido con Kinyoun y por PCR directa para amplificar la región del gen 18S rRNA del parásito (150 pb). Los fragmentos amplificados se purificaron y se mandaron a secuenciar a LANBAMA, IPICYT en San Luis Potosí. Las secuencias obtenidas se analizaron mediante los programas BLAST y BioEdit, y se compararon con las homologías del gen del parásito para determinar la especie de *Cryptosporidium* a la que pertenecían. Como resultado fue posible identificar la presencia del parásito en 42% (25/60) de las muestras fecales pertenecientes a becerras de entre 8 y 15 días de edad, independientemente de si la becerrera mostrara diarrea. Las muestras de moscas, agua y superficies favorecen la aparición de la enfermedad ya que al ser secuenciadas fueron positivas para el grupo de *C. parvum*, las muestras ambientales (moscas, agua y superficies) dieron positivas para *C. parvum* y *C. muris*. Esta investigación muestra resultados similares a los publicados por Santin *et al*, 2004 quien identificó *C. parvum*, en becerros lactantes. Por lo que se concluye que en esta investigación las muestras analizadas en la unidad de producción lechera permitieron identificar *Cryptosporidium parvum* y *muris*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS AL DESAFÍO DE BOVINOS INMUNIZADOS CON LA PROTEÍNA ENOLASA DE *B. bigemina*

### EVALUATION OF CLINICAL PARAMETERS AFTER CHALLENGE OF CATTLE IMMUNIZED WITH THE ENOLASA PROTEIN OF *B. bigemina*

Reynoso RAI<sup>1,2\*</sup>, Ortega SRI<sup>2</sup>, Luna RAL<sup>3</sup>, Mercado UMA<sup>2</sup>, Morales GJR<sup>2</sup>, Camacho NM<sup>3</sup>,  
Mosqueda J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología y Vacunas. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>3</sup>Licenciatura en Ciencias Genómicas. Colegio de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

joel.mosqueda@uaq.mx

Palabras Clave: *Babesia bigemina*, enolasa, vacunación.

#### Introducción

*Babesia bigemina* es un protozoario intraeritrocitario causante de la babesiosis bovina en México. Esta enfermedad es transmitida por garrapatas del género *Rhipicephalus* y afecta al ganado vacuno en regiones tropicales y subtropicales del mundo, causando pérdidas económicas en la industria ganadera. Con la finalidad de controlar la babesiosis bovina, se han implementado diversas estrategias de control, entre las que destacan: el empleo de fármacos, baños garrapaticidas, control biológico contra el vector, y las vacunas a base de parásitos atenuados con el fin de conferir inmunidad contra la enfermedad. A la fecha no hay vacunas comerciales a base de antígenos recombinantes contra *B. bigemina*.

Los mecanismos de la respuesta inmune están dirigidos, en mayor parte, contra antígenos presentes en los merozoitos y los eritrocitos parasitados. La enolasa, una enzima glucolítica y gluconeogénica que pertenece a una nueva clase de proteínas de superficie que, aunque no poseen la maquinaria clásica para el transporte de superficie, se transloca a la superficie de la célula. Se ha informado que esta molécula puede inducir una respuesta protectora contra la infección por *Candida albicans*, y otros estudios han demostrado que la enolasa se puede encontrar en la superficie de varios organismos eucariotas y procariontes, donde actúa como un receptor de unión al plasminógeno. Además, en *Plasmodium*, la enolasa es una proteína importante en el metabolismo energético y el desarrollo de los esquizontes y ensayos de vacunación han mostrado un efector protector en este género. Es razonable suponer que la enolasa puede servir como vacuna en contra de *B. bigemina*.

#### Objetivo

El objetivo del trabajo fue evaluar los parámetros clínicos de bovinos inmunizados con enolasa recombinante bajo un desafío controlado con *B. bigemina*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Materiales y métodos

### Inmunización

La enolasa recombinante, proporcionada por la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, se utilizó para inmunizar dos bovinos machos de la raza Holstein de entre 6 y 8 meses de edad, libres de anticuerpos contra *Babesia* spp. y libres de brucela y tuberculosis. Cada bovino se inmunizó 3 veces con 100µg de enolasa y adyuvante Montanide ISA 70 VG. Todas las inmunizaciones se aplicaron vía subcutánea cerca del ganglio linfático preescapular. Antes de cada muestreo se tomó una muestra de sangre sin anticoagulante de cada bovino, al cual se centrifugó para obtener el suero y se almacenó a -20°C hasta su uso. Dos becerros de condiciones similares se inmunizaron únicamente con adyuvante.

### Desafío

Para obtener eritrocitos infectados con *B. bigemina* se esplenectomizó un bovino 8 días antes del desafío y se infectó con una cepa de campo. Al día 0 post-desafío se tomaron los valores basales de los 4 bovinos: temperatura rectal (TR), volumen celular aglomerado (VCA) mediante la prueba de hematocrito (Hto), y el peso corporal. Inmediatamente después, todos se inocularon con una dosis de  $1 \times 10^8$  eritrocitos parasitados (EP) con *B. bigemina*. A partir del día 1 y hasta el día 10 se evaluaron los siguientes parámetros clínicos: TR, VCA y el porcentaje de eritrocitos parasitados (PEP) mediante frotis sanguíneos teñidos con colorante de Giemsa. Al final del desafío se pesaron los 4 animales.

### Ensayo Por Inmunoabsorción Ligado A Enzima (ELISA)

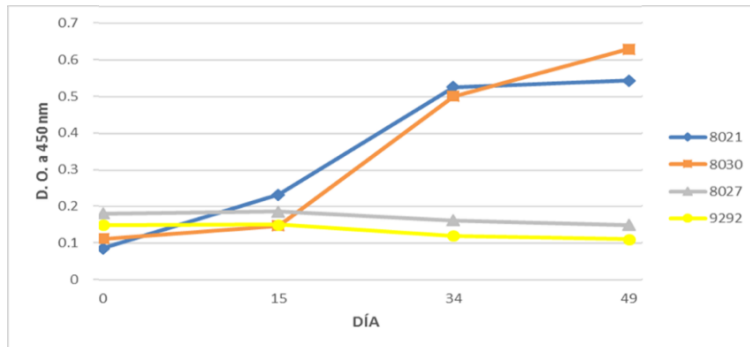
Se realizó una ELISA indirecta para evaluar la generación de anticuerpos anti-enolasa recombinante. Para esto, se sensibilizó una placa de ELISA marca Costar Corning 3590 con 10 µg de proteína recombinante por pozo en un volumen de 100µl de buffer de carbonatos. Después se incubó a 4°C durante toda la noche. Se desechó la solución y se lavó la placa 3 veces con 200µl de PBS-TWEEN 20 al 0.05% por pozo. Se procedió a bloquear la placa y para esto, se depositaron 200µl de buffer de bloqueo consistente en 5% de leche descremada en PBS-TWEEN 20 al 0.05%. Posteriormente se incubaron las placas por una hora a 37°C. Transcurrida la incubación, se desechó la solución y se repitió el proceso de lavado. Se colocaron 100 µl de cada uno de los sueros por pozo a una dilución 1:600 en PBS-TWEEN 20 al 0.05% por triplicado y se incubó la placa a 37°C durante una hora. Se repitió el proceso de lavado. Se colocaron 100 µl por pozo de anti-IgG de bovino acoplado a peroxidasa en PBS/TWEEN20 a una dilución 1:1000 y se incubó la placa a 37°C durante una hora. Se desechó la solución y se repitió el proceso de lavado. Posteriormente se depositó 100µl de solución de revelado (OPD) y la placa se incubó por 10 minutos. Terminado este tiempo se midió la densidad óptica a una longitud de onda de 450 nm. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el software de procesamiento de datos Excel de Microsoft.

### Resultados

Al analizar la producción de los anticuerpos totales en cada individuo, se observó un incremento en los anticuerpos a partir de la segunda inmunización, esto determinado por los valores de O.D., siendo máximo el incremento al día 49 post-vacunación, como se muestra en la figura 1. Los dos bovinos vacunados con adyuvante no tuvieron anticuerpos anti-rEnolasa durante todo el periodo.



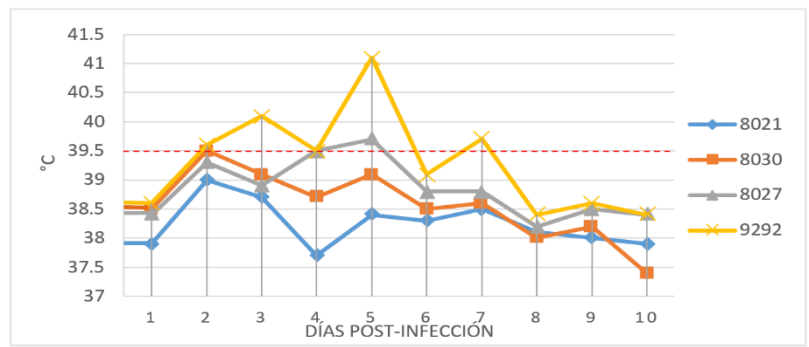
## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA



**Figura 1.** Respuesta de anticuerpos anti-rEnolasa de *B. bigemina* en bovinos inmunizados. Se determinó la producción de anticuerpos en los sueros de los bovinos mediante ELISA indirecta. La respuesta de anticuerpos a la rEnolasa se expresa en Densidad Óptica (D.O.) a 450 nm. Línea azul y línea naranja representan a los animales tratados (8021 y 8030); línea gris y línea amarilla representan a los animales controles (8027 y 9292).

A partir del día 0 se evaluaron las constantes fisiológicas de los 4 bovinos de manera individual. En cuanto a la temperatura rectal, se observó que los dos animales no inmunizados tuvieron temperaturas rectales arriba de los 39.5 °C como se muestra en la figura 2; el bovino 9292 tuvo temperaturas arriba de 39.5 °C desde el día 2 hasta el día 5 post-desafío con un máximo de 41.2 °C el día 5. Por su parte el bovino 8027 presentó temperaturas rectales de 39.5 y 39.7 °C los días 4 y 5 post desafío. Por otro lado, los animales vacunados se comportaron de manera diferente, el bovino 8021 no tuvo prácticamente variaciones en la temperatura rectal comparada con la basal, mientras que el bovino 8030 tuvo temperatura de 39.5 °C al día 2 post-desafío, regresando a los valores basales posteriormente (Figura 2).

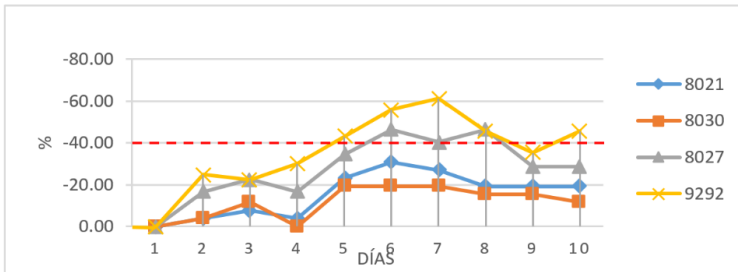
**Figura 2.** Temperatura rectal expresada en °C. Los puntos por arriba de la línea punteada indican fiebre; la línea azul y la línea naranja representan a los animales tratados (8021 y 8030); la línea gris y la línea amarilla representan a los animales controles (8027 y 9292).



Los resultados de volumen celular aglomerado mostraron que desde el día 2 post-infección se observaron disminuciones respecto al valor basal, pero los bovinos no vacunados tuvieron una disminución del VCA mayor; el bovino 9292 desde el día 5 tuvo un decremento de más del 40% el cual llegó hasta 60% al día 7. El bovino 8027 desde el día 6 tuvo una disminución de más de 40% del VCA con respecto al valor basal. Por otra parte, los animales vacunados con rEnoalsa llegaron a disminuir solamente el 30% y el 20% del valor basal (bovinos 8021 y 8030, respectivamente), como se muestra en la figura 3.

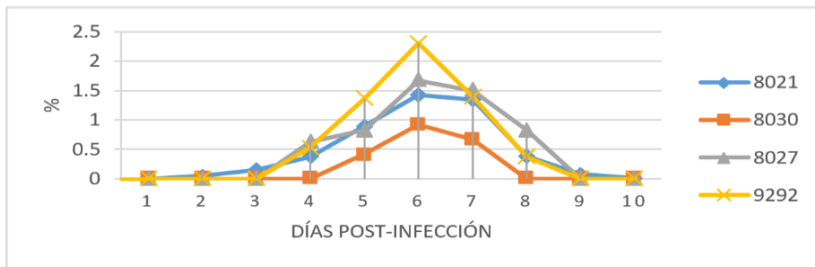


## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



**Figura 3.** Disminución del volumen celular aglomerado expresado en porcentaje. Los puntos por arriba de la línea punteada indican anemia considerable; línea azul y línea naranja representan a los animales tratados (8021 y 8030); línea gris y línea amarilla representan a los animales controles (8027 y 9292).

En cuanto al PEP, se observó una notable diferencia para el animal no inmunizado con identificación 9292 en el día 6 con 2.3% de parasitemia permaneciendo infectado hasta el día 9. Por su parte el animal no vacunado 8027 presentó EP desde el día 4 y alcanzó un pico máximo de 1.67 % de parasitemia el día 6, permaneciendo infectado hasta el día 9. En cambio para el animal inmunizado con identificación 8021 el pico máximo fue de 1.46% en el día 6; el animal inmunizado con identificación 8030 presentó EP hasta el día 5 alcanzando un pico máximo de 0.92% al día 6 y disminuyendo al día 8 como se muestra en la figura 4.



**Figura 4.** Porcentaje de parasitemia expresado en porcentaje; línea azul y línea naranja representan a los animales vacunados (8021 y 8030); línea gris y línea amarilla representan a los animales controles (8027 y 9292).

En el análisis de la ganancia de peso se realizó de manera individual y se observó una diferencia en la pérdida de peso entre los animales inmunizados y los animales no inmunizados. Los animales inmunizados con identificación 8021 y 8030 tuvieron una diferencia de -7 kg y -4 kg respectivamente en cambio, los animales no inmunizados con identificación 8027 y 9292 tuvieron una diferencia de peso de -12.5 kg y -33.5 kg respectivamente.

### Discusión

No existen estudios previos que evalúen la capacidad de la enolasa como vacuna contra *B. bigemina*. De acuerdo con los resultados de este trabajo, se observaron diferencias significativas en la evaluación de los parámetros clínicos. De acuerdo con Cantó y colaboradores (2003), se determinó que un animal, al llenar ciertos requisitos: fiebre por arriba de los 40.5 °C durante 3 días consecutivos y descenso del VCA superior a 40%, se consideraría muerto de no recibir ninguna intervención.

El animal no inmunizado con número de identificación 9292, presentó fiebre por 4 días consecutivos, el VCA descendió 61.14% y la parasitemia duró 5 días; el animal no inmunizado con número de identificación 8027 presentó fiebre 2 días y su VCA descendió hasta 46.43%, de igual manera su



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

parasitemia duró 5 días con un pico de 1.67%. Para los animales vacunados, los parámetros clínicos fueron diferentes; por ejemplo, el animal con identificación 8021 no presentó fiebre y su pico máximo de descenso de VCA fue de 30.77%, la parasitemia persistió por 9 días con un pico máximo de 1.4%; el animal con número de identificación 8030 en el día 2 presentó temperatura de 39.5 °C, pero descendió en los días consecutivos, el VCA descendió 19.23% y su parasitemia persistió solamente 3 días con un pico máximo de 0.92%.

En cuanto a la pérdida de peso hubo una diferencia significativa en los animales inmunizados y no inmunizados. Los bovinos inmunizados perdieron 7 y 4 kg; en cambio los animales no inmunizados perdieron 12.5 y 33.5 kg. Esta es una diferencia muy grande en términos de costos globales por animal y refleja el gasto energético consumido en resolver la enfermedad.

### Conclusión

Con base en los resultados preliminares obtenidos en este trabajo, la enolasa de *B. bigemina* es un antígeno que se puede utilizar como vacuna, produciendo títulos de anticuerpos elevados en un periodo de tiempo corto. También tiene efectos positivos sobre los parámetros clínicos y reduce la pérdida de peso de los animales infectados. Es conveniente realizar el estudio con un número mayor de animales.

### Referencias bibliográficas

- Bernal (2004) Caracterización enzimática de una enolasa recombinante de *T. solium* y su potencial uso como antígeno inmunodiagnóstico de neurocisticercosis. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Cantó, J., Figueroa, J., Ramos, J., Álvarez, J., Mosqueda, J., Vega, C. (1999). Evaluación de la patogenicidad y capacidad protectora de un inmunógeno fresco combinado de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*.
- Cantó, J., Álvarez, J., Rojas, E., Ramos, J., Mosqueda, J., Vega, C., Figueroa, J. (2013). Protection against bovine babesiosis with a mixed in vitro culture-derived *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* vaccine under field challenge. Immunization in a disease-free area.
- Cantó, J., Álvarez, J., Rojas, E., Ramos, J., Mosqueda, J., Vega, C., Figueroa, J. (2013). Protection against bovine babesiosis with a mixed in vitro culture derived *B. bovis* and *B. bigemina* vaccine under a field challenge. II Immunization in an endemic area.
- Cantu, A., Ortega-S, A., Mosqueda, J., Garcia-Vazquez, Z., Henke, E., George, J. (2007). Immunologic and Molecular Ranging White-Tailed Deer in Northern Mexico Journal of Wildlife Diseases.
- Mosqueda, J., Olvera, A., Aguilar, G., Cantó, G. (2012). Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. Current Medicinal Chemistry.
- Pancholi V. (2001) Multifunctional alpha-enolase: its role in diseases. Cell Mol Life Sci.
- Rojas, E., Mosqueda, J., Álvarez, J., Hernández, R., Ramos, J., Rojas, C., Cantó, G., Vega, C., Figueroa, J. (2011). Transmissibility of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* attenuated strains by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## INSTRUMENTACIÓN DE UNA PRUEBA DE ELISA PARA IDENTIFICAR ANIMALES EXPUESTOS A *Babesia bigemina*

### INSTRUMENTATION OF AN ELISA TEST TO IDENTIFY ANIMALS EXPOSED TO *Babesia bigemina*

Santamaria ERM<sup>1\*</sup>, Lira AJJ<sup>1</sup>, Vargas UP<sup>1</sup>, Figueroa MJV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Carr. Fed. Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Jiutepec, Morelos, C.P. 62550 santamaria.rebeca@inifap.gob.mx

Palabras clave: Inmunodiagnóstico, proteínas recombinantes, *Babesia bigemina*

#### Introducción

La babesiosis bovina es una de las principales enfermedades que afectan la economía ganadera en México y el mundo, el vector de esta enfermedad es la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) spp.*, que transmite los protozoarios intraeritrocíticos obligados *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (Bock, 2008). La presencia de la babesiosis se considera como obstáculo primordial, que afecta la introducción y establecimiento de razas de ganado bovino de buena calidad genética en las regiones tropicales. La Babesiosis bovina en México afecta primordialmente a ganado de carne, de doble propósito y, en ocasiones al ganado lechero en pastoreo (lechería tropical). En el 2016 se realizó una estimación por pérdidas económicas anuales, generadas por la disminución en producción láctea, debido a la presencia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, estimando un monto de US\$ 68, 878, 694. Mientras que las pérdidas en animales de engorda encastados en el trópico de México (*Bos indicus* x *Bos Taurus*) se estimó un monto de US\$ 504, 729, 382, por infestaciones del vector (Rodríguez *et al.*, 2017), esto sin incluir las pérdidas que genera la babesiosis bovina. Además, la babesiosis bovina se considera uno de los factores que limita la salud para el desarrollo de la ganadería en las regiones tropicales y subtropicales de México y de otros países del mundo, por tal motivo, se ha llevado a cabo la búsqueda y desarrollo de técnicas efectivas que faciliten su diagnóstico y control. Tradicionalmente, la técnica más utilizada es la observación microscópica de los parásitos en frotis sanguíneos teñidos con Giemsa, la cual, a pesar de ser una técnica con alta sensibilidad analítica y bajo costo, necesita de un analista con mucha experiencia para poder realizar la identificación del agente causal, el cual además sólo es posible observarlo durante la fase aguda de la enfermedad (Figueroa *et al.*, 1994; Bock *et al.*, 2008; OIE, 2013). Esta prueba es relativamente laboriosa cuando un gran número de muestras de sangre necesitan ser simultáneamente evaluadas y, además, el límite de detección de la microscopia óptica no siempre es lo suficientemente sensible (Figueroa y Buening, 1995). Una alternativa para el diagnóstico de la infección por *Babesia* en ganado es la identificación indirecta de los parásitos a través de la demostración de anticuerpos por métodos serológicos (IFI). En estudios previos se han estimado tasas de seroprevalencia con amplia variación en diferentes países; Por ejemplo, en México del 5% al 89% (Álvarez y Cantó, 1995). Por otro lado, las técnicas directas a través de la detección de ácidos nucleicos son métodos muy altamente sensibles analíticamente pero relativamente costosos en cuanto a su aplicación, tal como la prueba de PCR (Figueroa y Buening, 1995).

Dada la elevada subjetividad de la prueba de IFI se ha demandado la necesidad de contar en México con una prueba serológica más objetiva, versátil y reproducible la cual, además de poseer una elevada sensibilidad y especificidad epidemiológica, se preste a un esquema de semi-automatización





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

que permita el análisis de un elevado número de muestras a la vez. Parte del conocimiento sobre proteínas antigénicas de *Babesia* spp. con potencial diagnóstico se basa en su inmunodominancia y conservación entre aislados de *B. bigemina*, y la proteína asociada a roptrías (RAP-1) ha sido demostrada ser un antígeno inmunodominante mediante pruebas de inmunoprecipitación e inmunoelectrotransferencia y altamente conservado en aislados de distinto origen geográfico (Figueroa *et al*, 1990; McElwain *et al*, 1991).

### Objetivo

El objetivo del presente estudio fue instrumentar un ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA) para el diagnóstico de *B. bigemina* utilizando como posibles antígenos la versión recombinante de las proteínas RAP1, Gp45 y 12D3.

### Materiales y métodos

**Proteínas recombinantes.** Los antígenos recombinantes r12D3, GP45 y rRAP-1 se prepararon a partir de la clonación de sus genes respectivos, utilizando ADN genómico de *B. bigemina* de cultivo *in vitro* (Vega *et al*, 1985). El ADN purificado se utilizó como plantilla para llevar a cabo la amplificación *in vitro* de los genes *rap-1a*, *gp45* y *12d3* de *Babesia bigemina* por PCR. Los amplicones se clonaron en el sistema de expresión del sistema de expresión de pBAD / TOPO (Invitrogen Carlsbad, CA), y el antígeno recombinante se expresó como proteínas de fusión rRAP-1-tiorredoxina. La versión recombinante del antígeno de *B. bigemina* se purificó por cromatografía de afinidad utilizando columnas con resina NI-NTA y la calidad de la purificación se analizó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (Arévalo *et al*, 2008).

**Muestras.** Se utilizaron 80 muestras de sueros provenientes de animales considerados negativos realmente negativos. Se utilizaron 30 sueros de bovinos experimentalmente vacunados o infectados con cepas de *Babesia bigemina*. Estos sueros se consideraron como positivos realmente positivos. Además, se incluyeron controles positivos (FAO +, FAO -, controles positivos a *B. bigemina*). Las muestras obtenidas de ambos grupos de animales fueron utilizadas para la instrumentación de iELISA y para la determinación de las tasas de sensibilidad y especificidad diagnósticas. El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el CENID-SAI del INIFAP ubicado en el municipio de Jiutepec, Morelos.

**Ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA).** Se realizó la estandarización de iELISA en fase sólida, utilizando como antígenos rRAP-1, rGp45 y r12D3, para *B. bigemina* (Arévalo *et al.*, 2008) las placas ELISA se sensibilizaron usando un volumen final de 100 µl por placa para cada proteína, usando como diluyente un tampón carbonato (pH 9.6). Las placas se incubaron a 4°C durante la noche. El bloqueo se continuó con leche al 3%, en PBS-Tween al 0,1%. Posteriormente, se agregaron 50 µL de los sueros (controles positivos y negativos), utilizando una dilución de 1: 100 en PBS. Se incubó a 37 ° C durante una hora y después del tiempo 100 µL de la IgG anti-cabra del segundo anticuerpo (conjugado) en cabra, marcada con fosfatasa ácida en una dilución 1: 5,000 en PBS y se incubó a 37 ° C por 30 minutos, al final de los cuales se agregaron 50 µL de sustrato de fosfato de p-nitrofenilo (PNP, SIGMA) a una dilución de 1: 50,000. Finalmente, se realizó la lectura en un espectrofotómetro (BIO-RAD iMark®14710), determinando los valores de absorbancia a una densidad óptica de 405 nm. Posteriormente, y con la obtención de la proteína ideal y la concentración para la prueba.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). El antígeno para la prueba de IFI, es derivado del cultivo *in vitro* de *B. bigemina*, con un porcentaje de eritrocitos parasitados del 5% y se mantuvo a -20 ° C. Al realizar la técnica, las láminas se incubaron a 37°C durante 15 minutos, cada suero se diluyó 1: 80 con PBS y se colocaron 10 µl en círculos previamente marcados con lápiz graso y se incubaron a 37°C durante 30 minutos, se lavaron con PBS y se incubó con un conjugado IgG anti-bovino, producido en cabra marcado con isotiocianato de fluoresceína (Kirkegaard & Perry Laboratories) a una dilución de 1: 300. Se incubaron a 37°C 30 min y se lavaron con PBS. Finalmente, se lavaron con agua destilada, se secaron para ser visualizados bajo un microscopio de epifluorescencia (042 34473-B LEICA® DMLB).

Evaluación de la prueba de iELISA con antígenos rRAP-1 y rMSA-1 en muestras de animales de una zona endémica a la babesiosis bovina. Se analizaron 103 sueros de un muestreo representativo del hato bovino del CE “La Posta” en Paso del Toro, Veracruz, zona endémica de babesiosis bovina en México, donde previamente se han determinado prevalencias de hasta un 80% a *Babesia* spp (Álvarez *et al*, 2007). Los sueros fueron analizados con la prueba de ELISA-rRAP-1 instrumentada en este estudio. Los resultados obtenidos en la prueba de ELISA fueron comparados con los obtenidos en prueba paralela con el método actualmente considerado como estándar (prueba de IFI).

Análisis de datos. Se determinó la tasa de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, empleando sueros negativos (n= 80) y sueros positivos (n= 30), incluyendo la “prueba de oro serológica” la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) Vs iELISA, mediante tablas de contingencia de 2x2. (Cuevas *et al.*, 2010).

### Resultados y discusión

La técnica de ELISA, es una de las técnicas más utilizadas actualmente para el diagnóstico de hemoparásitos dada su alta sensibilidad y especificidad (Solorio y Rodríguez, 1997), en los resultados obtenidos en el presente estudio, la proteína rRAP-1 mostró la mejor reacción con el suero FAO (+), ya que los valores de absorbancia (0.6 nm) fueron mayores en comparación con las proteínas 12D3 y GP45 utilizadas como antígeno (Figura 1), a la dilución óptima de la prueba. En los sueros, la mejor dilución fue 1: 100 y 1: 200 proporcionaron los valores más altos de absorbancia que podrían clasificar fácilmente los sueros positivos a *B. bigemina* de aquellos negativos (Figura 2). La sensibilidad diagnóstica y las tasas de especificidad estimadas para la prueba ELISA con antígeno rRAP-1, fue del 90% y 93.75%, respectivamente y un valor predictivo positivo de 84.3%; el valor predictivo negativo fue de 96.0%, para iELISA. Mientras que para la prueba IFI la sensibilidad fue de 86,66%, la especificidad del 95%, un valor predictivo positivo del 86,6% y un valor predictivo negativo del 95,0%, obteniendo, en general, mejores parámetros en la técnica iELISA. En este estudio, la especificidad estimada fue ligeramente mayor con respecto a la sensibilidad porque el punto de corte con el que se clasificó cada uno de los resultados se determinó en función de los resultados de OD 405 nm de las muestras negativas verdaderamente negativas (Absorbancia  $0.11 \pm 0.10$ , Figura 2). Además, los resultados de este estudio muestran una sensibilidad más baja para la prueba IFI, esencialmente a la subjetividad que generalmente ocurre al hacer el análisis microscópico. Al determinar el valor del acuerdo kappa, se observó que el resultado fue de 0,52, lo que indica que la concordancia entre los resultados obtenidos con las pruebas ELISA e IFA es moderada.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Por otro lado, en previos estudios empleando la técnica de iELISA Vs IFI, se obtuvo para la prueba de IFI, una sensibilidad y especificidad del 98 %. Mientras que para ELISA la sensibilidad fue del 97 % y una especificidad de 93 %, respectivamente. Cabe destacar que para esta técnica se empleó como antígeno fracciones purificadas de la lisis de eritrocitos parasitados con *B. bovis* obtenido del CSIRO, Australia, en este caso el principal problema del ELISA es la complejidad en la producción de antígenos libres de proteínas contaminantes del huésped (Domínguez *et al.*, 1995). Este antígeno, así como otros han mostrado algunas reacciones cruzadas con *Anaplasma marginale*, a diferencia del presente estudio en donde se emplean proteínas recombinantes como antígeno para *Babesia bigemina*. Finalmente, la prueba instrumentada de iELISA con antígeno rRAP-1 posee una tasa de especificidad excelente y una sensibilidad aceptable que permite la detección de anticuerpos anti-*B. bigemina* en bovinos expuestos a la garrapata vector *Rhipicephalus (B.) microplus*. La prueba de ELISA promete ser un tipo de diagnóstico seguro y de bajo costo al alcance de los productores.

Finalmente, se estimó una seroprevalencia del 20.3% para *Babesia bigemina* y 19.4 % para *Babesia bovis*, mientras que el 36.89 % fueron positivas para ambas especies de *Babesia*. Empleando la técnica de iELISA en el ható del CE "La Posta". Así, la prevalencia agregada de anticuerpos para *Babesia* spp determinada en el ható bovino utilizando las pruebas de ELISA con los 2 diferentes antígenos recombinantes se estima en un 76.6%, valor ligeramente superior al obtenido con la prueba de inmunofluorescencia indirecta (71%), considerada como la prueba estándar para estimación de seroprevalencia a babesiosis bovina en México. En cuanto a la seroprevalencia estimada empleando la iELISA, en el C.E. "La Posta" fue del 76 % para *Babesia* spp. considerada una zona de alta endemizada, sin embargo, la mayoría de las prevalencias que se han reportado en el país son determinadas mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, encontrando en el Estado de Yucatán una seroprevalencia a *B. bigemina* del 66.8% (Solís *et al.*, 1998).

Ese valor fue menor al de este estudio, y se consideró que apenas alcanzaba una situación de estabilidad enzoótica (Mahoney & Ross, 1972; Ríos *et al.*, 2010). Similarmente en otros estados que incluyen Veracruz, Guerrero, Chiapas, Tabasco, Tamaulipas, Chiapas, Yucatán, Nayarit, Puebla y Morelos se han reportado seroprevalencias que varían del 37 al 96% (Álvarez y Cantó 1985; Cantó *et al.*, 1985; Fernández *et al.*, 1995; Rojas *et al.*, 2004; Mejía *et al.*, 2011). En Axochiapan, Morelos, se ha reportado para *B. bovis* prevalencia de 73% y para *B. bigemina* 82%. Finalmente, durante el presente estudio se llegó a la conclusión de que la prueba instrumentada de iELISA con antígeno rRAP-1 posee una tasa de especificidad excelente y una sensibilidad aceptable que permite la detección de anticuerpos anti-*B. bigemina* en bovinos expuestos a la garrapata vector *Rhipicephalus (B.) microplus*. La prueba de ELISA promete ser un tipo de diagnóstico seguro y de bajo costo al alcance de los productores.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

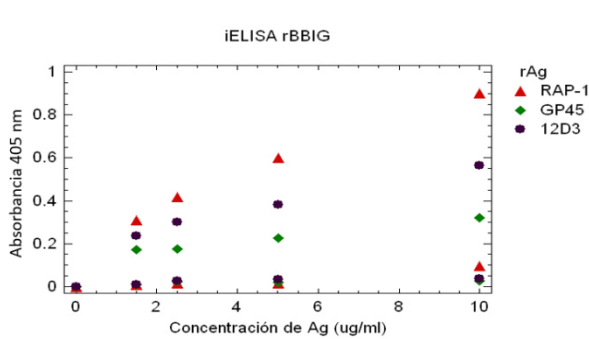


Figura 1. Comparación de antígenos recombinantes y determinación de la concentración de antígeno.

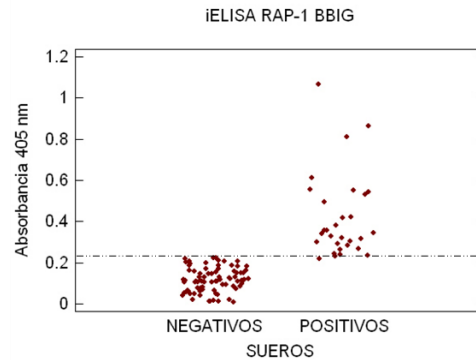


Figura 2. Valores de absorbancia de muestras positivas y negativas, probados en la prueba de iELISA con el antígeno rRAP-1 de *B. bigemina*.

## Conclusión

La prueba instrumentada en el presente trabajo (iELISA), empleando como antígeno rRAP-1, posee una tasa de especificidad excelente y una sensibilidad aceptable que permite la detección de anticuerpos anti-*B. bigemina* en bovinos expuestos a la garrapata vector *Rhipicephalus (B.) microplus*. Además, esta prueba promete ser una alternativa para el inmunodiagnóstico de la babesiosis bovina.

## Implicaciones

La instrumentación de técnicas serológicas para el diagnóstico de la babesiosis bovina permitirá saber la estabilidad enzoótica de áreas de alta endemicidad con mayor sensibilidad y especificidad, debido a la desventaja que tiene la técnica de IFI, la alta subjetividad en la interpretación de los resultados.

## Fuente Financiadora

Estudio parcialmente financiado con el proyecto CONACYT "Problemas nacionales" con terminación 1336.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias Bibliográficas

Bock RE, Jackson LA, de Vos AJ, Jorgensen WK. 2008. Babesiosis of cattle. Pp. 281–307. In: A. S. Bowman and P. A. Nuttall. (Eds.). *Ticks Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press, New York.

Figueroa JV, Chieves LP, Johnson GS, Goff WL, Buening GM. 1994. Chain reaction-based diagnostic assay to detect cattle chronically infected with *Babesia bovis*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*; 36: 47–55.

McElwain TF, Perryman LE, Musoke AJ, McGuire TC. 1991. Molecular characterization and immunogenicity of neutralization sensitive *Babesia bigemina* merozoite surface proteins. *Mol. Biochem. Parasitol.* 47:213-222.

Rodríguez VRI, Grisi L, Pérez LAA, Silva VH, Torres AJF, Fragoso SH, Romero SD, Rosario CR, Saldiernah F, García CD. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Rev Mex Cienc Pecu*, 8, 61-74



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## MONITOREO CLÍNICO Y SEROLÓGICO DE BOVINOS ESPLENECTOMIZADOS E INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON *Babesia bovis* Y *Babesia bigemina*

### CLINICAL AND SEROLOGICAL MONITORING OF ESPLENECTOMIZED AND INFECTED CATTLE EXPERIMENTALLY WITH *Babesia bovis* AND *Babesia bigemina*

Saborío DJE<sup>1\*</sup>, Santamaria ERM<sup>2</sup>, Figueroa MJV<sup>2</sup>, Lira AJJ<sup>2</sup>, Rojas MC<sup>2</sup>, Álvarez MJA<sup>2</sup>, Ojeda CJJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitario UAEM Amecameca. Carretera Amecameca, Ayapango KM 2.5, Centro, 56900 Amecameca de Juárez, Méx.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Jiutepec, Morelos, C.P. 62550  
jsaboriod93@gmail.com

Palabras clave: Monitoreo clínico y serológico, babesiosis bovina.

#### Introducción

La babesiosis bovina es una enfermedad causada por protozoarios intraeritocitarios obligatorios del género *Babesia* (Álvarez y Figueroa, 2007), se encuentra ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales de México y el mundo, en donde su presencia está asociada a la garrapata vector *Rhipicephalus* spp. En México se han reconocido las especies de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (Rojas *et al.*, 2004). *B. bigemina* presenta la distribución más amplia, pero *B. bovis* en general es más patógena. Las infecciones por *B. bovis* se caracterizan por causar signos nerviosos, mientras que *B. bigemina* ocasiona una patología hemolítica severa (Zintl *et al.*, 2003). Esta enfermedad se ha considerado de importancia debido a las pérdidas productivas y económicas que ocasiona, por ejemplo; disminución en la producción de leche y ganancia diaria de peso, pérdida de la gestación de manera ocasional por la aparición de abortos y muerte de los animales infectados (Rojas *et al.*, 2004). Se estima que más de 900 millones de cabezas de ganado están en riesgo de contraer la enfermedad (Singh *et al.*, 2008) y se ha atribuido a la babesiosis bovina causando pérdidas económicas superiores a los 800 millones de dólares anuales (Betancourt, 1996). Las altas tasas de morbilidad y mortalidad que ocasiona la babesiosis en el ganado bovino de nuestro país, ha propiciado que se redoblen los esfuerzos en temas de investigación para la instrumentación de métodos diagnósticos más eficaces y para el desarrollo de inmunógenos profilácticos contra la enfermedad. Debido a la importancia del mantenimiento y conservación del banco de germoplasma de la Unidad de Babesia en el CENID-SAI, INIFAP, el objetivo de este estudio estuvo basado en monitorear clínica y serológicamente bovinos infectados de manera experimental con aislados de campo de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*.

#### Materiales y métodos

Localización. El presente trabajo fue realizado en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CENID-SAI, INIFAP), ubicado en el Km. 11.5 de la Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, C.P. 62550.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Animales experimentales y material biológico. Dos bovinos *Bos taurus* identificados con arete plástico 064 y 067 de aproximadamente seis meses de edad provenientes de una zona libre de garrapatas, y que se encontraban libres de tuberculosis, brucelosis y de anticuerpos contra *Babesia* spp. fueron empleados para este estudio. Los dos animales fueron esplenectomizados y posteriormente inoculados vía intramuscular con eritrocitos infectados de dos aislados de campo, *B. bovis* Tamaulipas (064) y *B. bigemina* Chiapas (067).

Monitoreo clínico. El monitoreo clínico se realizó diariamente durante 14 días posterior a la inoculación (PI), el cual consistió registrar la temperatura rectal (TR), observación de los animales en búsqueda de signos clínicos relacionados con babesiosis bovina y la toma de muestras sanguíneas de cada animal utilizando tubos con anticoagulante EDTA y sin anticoagulante para la obtención de suero. A partir de las muestras de sangre, se determinó el volumen celular aglomerado (VCA) mediante la prueba de microhematocrito, al mismo tiempo también se realizaron frotis sanguíneos para tinción con colorante Giemsa para su evaluación por microscopía para la visualización de las formas clásicas de *Babesia* spp. y determinación del porcentaje de eritrocitos parasitados (PEP).

Monitoreo serológico. Se realizaron diluciones dobles seriadas (1:80 – 1:10240) a partir de las muestras de suero obtenidas, las cuales sirvieron para determinar los niveles de anticuerpos IgG anti-*B. bovis*, y anti- *B. bigemina* mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Brevemente, se utilizaron laminillas que contenían eritrocitos infectados derivados del cultivo *in vitro* como antígeno y mantenidas a -20 °C, posteriormente las laminillas se desecaron y se fijaron con acetona durante 10 minutos. Fueron colocados 6 µl. (dilución 1:80 en PBS) de los controles positivos, negativos y sueros que fueron evaluados. Las muestras se incubaron en una cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos y se les realizaron 3 lavados a las laminillas con PBS y agua destilada. Posteriormente, se adicionó suero de cabra anti-IgG de bovino conjugado con isotiocianato de fluoresceína a las muestras y se dejaron incubar en una cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos, al término se les realizaron 3 lavados a las laminillas con PBS y agua destilada. Finalmente, las muestras de suero fueron evaluadas en un microscopio de epifluorescencia.

### Resultados y discusión

Durante el monitoreo clínico se tomaron en cuenta los valores de, TR, VCA y PEP, además se consideraron signos clínicos adicionales característicos de la enfermedad, el periodo de incubación tuvo una duración de un promedio de 14 días para ambos bovinos. Es importante mencionar que el bovino inoculado con *B. bovis* Tamaulipas presentó un cuadro clínico más severo en comparación con el bovino inoculado con *B. bigemina* Chiapas. Una vez que en los animales se obtuvo un PEP (parasitemia) deseado o cuando presentaron estrictamente de manera simultánea: Fiebre  $\geq 40^{\circ}\text{C}$  durante 3 días consecutivos, descenso de microhematocrito y se identificó a los parásitos por microscopía en frotis sanguíneo, se determinó la muerte experimental para evitar la muerte de los animales. Al mismo tiempo, cuando se llegó al máximo PEP (1.5% para *B. bovis* y 5% para *B. bigemina*) se elaboraron extendidos de sangre en laminillas con eritrocitos infectados como antígeno para su uso en la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se recolectaron muestras de sangre de cada uno de los días PI donde se obtuvo el suero para la titulación de anticuerpos contra *B. bovis* y *B. bigemina*. En el presente trabajo la temperatura rectal fue tomada diariamente pre inoculación y



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

post inoculación (PI) en ambos bovinos para un total de 18 días, la temperatura rectal presento un ascenso  $\geq 40^{\circ}\text{C}$  durante 3 días consecutivos en el bovino 064, mientras que el bovino 067 solo presento TR  $\geq 40^{\circ}\text{C}$  1 día. El aumento de la TR se dio a partir del día 8 PI para el bovino 064 y del día 7 PI para el bovino 067, el índice de TR más alto se registró en  $41.3^{\circ}\text{C}$  al día 13 PI para el bovino 064 y  $41.2^{\circ}\text{C}$  para el bovino 067 al día 8 PI. En un trabajo de investigación realizado por Cantó *et al.* (2002) se utilizaron tres bovinos esplenectomizados e inmunosuprimidos a los cuales les fueron inoculados eritrocitos infectados con *B. bovis* y *B. bigemina* derivados de cultivo *in vitro*. Una vez inoculados los bovinos se realizó el monitoreo de TR donde se observó que el animal inoculado con *B. bigemina* no presentó ninguna alteración en los valores basales de temperatura, para el caso de *B. bovis* se tuvieron que utilizar dos animales también esplenectomizados e inmunodeprimidos, en el primero se observó un incremento de la TR al día 3 PI con un índice de  $40.5^{\circ}\text{C}$  y alcanzando el índice máximo de  $41.5^{\circ}\text{C}$  durante los 3 días siguientes, mientras que en el segundo bovino presentó TR de  $41.5^{\circ}\text{C}$  en el día 5 PI. Para los valores del VCA registrados en el presente estudio, se observó una disminución en el bovino 064 partir del día 11 PI (29.3%) y gradualmente en los días posteriores. En el bovino 067 el VCA disminuyó a partir del día 9 PI (23.2%). Cabe destacar que estos valores obtenidos del VCA fueron superiores a los reportados por Rojas *et al.*, (2004) donde se determinó la prevalencia e incidencia en bovinos naturalmente expuestos a *B. bovis* y *B. bigemina* en un hato ubicado en el estado de Morelos. El porcentaje de eritrocitos parasitados (PEP) o parasitemia se determinó mediante la visualización microscópica de las formas clásicas en los frotis sanguíneos. En el caso el bovino 067 la parasitemia alcanzada al día 6 PI fue 0.5%, alcanzando para el día 8 PI una parasitemia del 5% y siendo este el día con el valor más alto. En el bovino 064 la obtención de las muestras sanguíneas se prolongó hasta el día 14 PI debido a que la parasitemia alcanzada era muy baja para el día 7 PI (0.4%), alcanzando el día 13 PI el valor de parasitemia mas alto (1.5%). Con estos resultados se demuestra que en algunos casos después de la evaluación de frotis no es posible visualizar a los parásitos de *B. bovis* debido a las bajas parasitemias (0.01%) como lo reportado por Rojas *et al.*, (2004). Después de la evaluación de la respuesta inmune contra *Babesia* spp. con la técnica de IFI (Figura 1), los resultados obtenidos demostraron un adecuado reconocimiento del antígeno de *B. bovis* con las muestras de suero del bovino 064, el cual seroconvirtió a partir del día 7 PI y alcanzando títulos altos de anticuerpos (1:10240) para el día 23 PI. Mientras que el bovino 067 únicamente se alcanzaron títulos de 1:1280 para anticuerpos contra *B. bigemina* en el día 21 PI. Esto podría deberse a que se ha comprobado que *B. bovis* es más virulenta, sin embargo, *B. bigemina* disminuye su capacidad de virulencia debido a que el parásito tiene una larga permanencia en animales infectados de forma latente (OIE, 2014). Estos resultados son similares a los obtenidos en el estudio realizado por Bautista-Garfías *et al.*, (2012), en donde los niveles de anticuerpos siempre fueron más altos contra *B. bovis* en comparación que contra *B. bigemina*.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

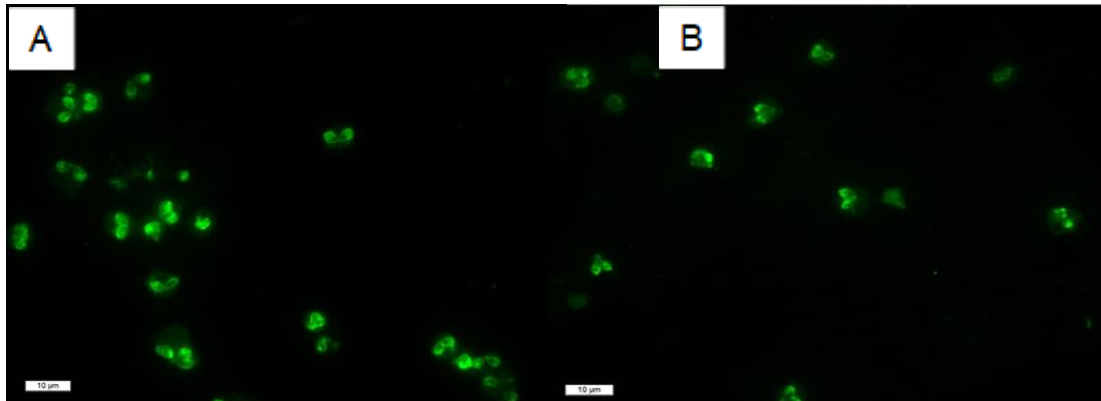


Figura 1. Prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI): A) Anticuerpos IgG anti- *B. bovis*, B) Anticuerpos IgG anti-*B. bigemina*.

### Conclusiones

Mediante el uso de animales esplenectomizados e inoculados experimentalmente con *B. bovis* y *B. bigemina* fue posible inducir una parasitemia que provocará signología clínica de babesiosis bovina, además, de que fue posible determinar el día en el que se obtuvo el mayor grado de parasitemia, mediante el registro de los parámetros; como temperatura rectal, porcentaje de hematocrito e identificación de los parásitos a través de frotis sanguíneo.

### Implicaciones

Aunque la infección fue experimental y en un entorno controlado, las parasitemias alcanzadas para ambos bovinos fueron las esperadas, en el presente estudio se sugiere que utilizar bovinos esplenectomizados e inoculados experimentalmente con aislados de campo, sigue siendo el método más eficaz para la conservación y obtención de material biológico, el cual servirá para la estandarización y desarrollo de nuevos métodos serológicos y moleculares para el diagnóstico de *B. bovis* y *B. bigemina*.

### Agradecimientos

Trabajo parcialmente financiado con recursos del CONACYT, Problemas Nacionales 2015, proyecto No. 1336.

### Referencias bibliográficas

- Álvarez, M.J.A. Figueroa, M.J.V. (2007). *Cultivo in vitro de Babesia bovis y Babesia bigemina y su aplicación para la producción de la vacuna*. Ciencia Veterinaria, 10, 137-152.
- Bautista, G.C.R., Castañeda, A.R., Álvarez, M.J.A., Rojas, M.C., Figueroa, M.J.V. y Rodríguez, L.A. (2012). *La vacunación simultánea de bovinos con Lactobacillus casei y la vacuna bivalente contra babesiosis bovina genera una mejor protección contra Babesia bovis y B. bigemina transmitidas por garrapatas en condiciones extremas de campo*. Vet. Méx., 43(3), 189-200.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Betancourt, A. (1996). *Epidemiología y control de hemoparásitos en bovinos*. CORPOICA. Epidemiología, diagnóstico y control de enfermedades parasitarias en bovinos, 2, 7-11.
- Cantó, A.J., Ramos, A.J.A., Rojas, R.E.E., Vega, M.C.A., Oviedo, G.V., Figueroa, M.J.V. y Álvarez, M.J.A. (2002). *Evaluación de la inocuidad y protección de un inmunógeno derivado de cultivo in vitro de Babesia bovis y Babesia bigemina multiplicado en bovinos*. Técnica Pecuaria en México, 40(2), 127-138.
- OIE. (2014). *Babesiosis bovina*. Manual terrestre de la OIE, Cap 2.4.2, 399-404.
- Rojas, E., Domínguez, P., García, M., Cruz, V.C., Figueroa, M.J.V. y Ramos, A.J.A. (2004). *Prevalencia e incidencia de Babesia bovis y Babesia bigemina en un hato bovino en Axochiapan, Morelos*. Avances en investigación Agropecuaria, 1-8.
- Singh, H., Mishra, A., Rao, J., Tewari, A. (2008). *Comparison of indirect fluorescent antibody test (IFAT) and slide enzyme linked immunosorbent assay (SELISA) for diagnosis of Babesia bigemina infection in bovines*. Tropical Animal Health and Production, 41(2), 153-159.
- Zintl, A., Mulcahy, G., Skerrett, H.E., Taylor, S.M. y Gray, J.S. (2003). *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. Clinical microbiology reviews, 16(4): 622-636.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SECCIÓN II. HELMINTOS

### DETERMINACIÓN DEL MANEJO PARASITARIO DIFERENCIADO POR RAZA EN INFECCIONES POR NEMATODOS GASTROINTESTINALES A PARTIR DE UMBRALES CLÍNICOS EN PRODUCCIONES OVINAS

#### DIFFERENTIATED PARASITARIAN MANAGEMENT DETERMINATION BY RACE IN GASTROINTESTINAL NEMATODES INFECTIONS FROM CLINICAL THRESHOLDS IN SHEEP PRODUCTIONS

Almazán AJJ<sup>1,2</sup>, González RL<sup>1</sup>, Martínez OMC<sup>1</sup>, Ortiz de Montellano NAM<sup>3</sup>, Saldaña HN<sup>1</sup>, Cuéllar OA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Colonia UNAM, CU. Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, México.

<sup>3</sup>Educación Abierta Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México.  
cintli@unam.mx

Palabras clave: nematodos gastrointestinales, razas ovinas, umbral clínico

#### Resumen

Los nematodos gastrointestinales (NGI) ocasionan pérdidas económicas en la producción de ovinos en México. Estudios confirman que las razas lanares eliminan más NGI que las de pelo. Históricamente en el centro del país, específicamente en el Estado de México se considera un umbral de 1000 huevos por gramo de heces (HPG). El estudio se llevó a cabo durante 7 meses en un rebaño ovino ubicado en el Edo. de México, que cuenta con tres razas Texel (T), Dorper (Do) y Damara (Da). Se trabajó con 20 ovejas de cada raza teniendo un total de 60 animales. Se colectaron muestras de heces quincenalmente, (689 muestras) a las cuales se les realizó la técnica de McMaster para obtener los HPG. El análisis de los datos se realizó con estadística descriptiva y para evaluar la asociación entre razas del umbral histórico y la distribución de HPG entre razas se usó la prueba de  $\chi^2$ . Los resultados muestran que hay asociación entre las razas y el umbral de 1000 HPG ( $p < 0.001$ ), T mostró un umbral menor de lo esperado (200), Da un umbral igual a lo esperado (400) y Do un umbral menor a lo esperado (1700). El nivel de dispersión de HPG está relacionado con la raza, T presenta una menor carga con respecto a Do ( $p \leq 0.05$ ) y con Da ( $p \leq 0.01$ ). Do presenta una tendencia a mayor carga. No se encontró una asociación entre la carga de HPG entre Do y Da. El objetivo de este estudio se alcanzó al evaluar éste umbral de referencia histórico y al comprobar que el nivel de dispersión de los HPG está relacionado con la raza para determinar que el manejo parasitario en una unidad de producción bajo una misma zona ecológica debe ser diferente entre razas. Más estudios se necesitan para corroborar lo encontrado.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEMATICIDA *in vitro* DE FILTRADOS DE CULTIVO DE HONGOS NEMATÓFAGOS CONTRA LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus*

### *In vitro* NEMATOCIDAL ACTIVITY OF NEMATOPHAGOUS FUNGI CULTURE FILTRATES AGAINST *Haemonchus contortus* INFECTIVE LARVAE

Ángeles HS<sup>1,2</sup>, Torres HG<sup>2</sup>, Alcántara CJL<sup>2</sup>, Vargas LS<sup>3</sup>, Olmedo JA<sup>1</sup>, Zamilpa A<sup>4</sup>, González CM<sup>4</sup> y Mendoza de GP<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Boulevard Paseo Cuauhnahuac No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, México. CP 62556; <sup>2</sup>Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Carr. Texcoco-México, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230, México; <sup>3</sup>Colegio de Postgraduados Campus Puebla, Km. 125.5, Carr. Federal México-Puebla, Cholula, Puebla, México. C.P.72760, <sup>4</sup>Centro de Investigación Biomédica del Sur, CIBIS, IMSS. Argentina 1, Col. Centro, Xochitepec, Morelos, México. C.P. 62790.  
\*pedromdgives@yahoo.com

Palabras clave: antiparasitario, filtrado, nematicida.

#### Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad nematicida *in vitro* de filtrados de hongos nematófagos contra *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>). Materiales y métodos: Tres cepas de HN: 1) *Duddintonia flagrans*, 2) *Arthrobotrys musiformis* y 3) *Clonostachys rosea*, se transfirieron a placas de agar papa dextrosa con crecimiento de 10 d con 12 h oscuridad/luz. Posteriormente, se hizo raspado de micelio con solución salina al 0.85%. La suspensión fungal se transfirió a medio de cultivo de arroz fermentado, se incubaron a 25 °C por 40 d con 12 h oscuridad/luz. Al finalizar se adicionó agua destilada estéril a una relación de 1 g: 2 mL; permanecieron en agitación por 24 h, a 60 rpm y 25 °C. Se centrifugó a 3000 rpm por 30 m. El sobrenadante se filtró utilizando una membrana de 110 mm y 1.2 µm. Se realizó una bipartición con acetato de etilo (1 mL FC:1 acetato de etilo) para obtener las fracciones acuosa y orgánica (AcEt-F). El volumen recuperado de las fracciones se redujo mediante un rotaevaporador. La evaluación de la actividad nematicida *in vitro* se realizó mediante confrontaciones larvas/FC y larvas/ AcEt-F en microplacas de 96 pozos durante 72 h a 18-25°C. Resultados: Los datos recuperados no cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Se efectuó una prueba de Kruskal Wallis, con una  $\chi^2(1) = 33.568$ ,  $p < 0.05$ ; el tratamiento significativamente diferente fue *A. musiformis* con una concentración de 250 mg/mL y un efecto nematicida del 94%; mientras que AcEt-F con  $\chi^2(1) = 56.698$ ,  $p < 0.05$  indicó que los tratamientos con 18 mg/mL de *C. rosea* y *A. musiformis* y 9 mg/mL de *C. rosea* muestran diferencias estadísticamente significativas con 97, 99 y 93% de mortalidad, respectivamente. La concentración letal 50 y 90 del FC de *A. musiformis* contra L<sub>3</sub> de *H. contortus* fue de 115.5 y 233.6 mg/mL, respectivamente.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## FRECUENCIA DE HUEVOS DE PARASITOS GASTROINTESTINALES EN CABRAS DEL ALTIPLANO DE TAMAULIPAS, MÉXICO

### FREQUENCY OF GASTROINTESTINAL PARASITES EGGS IN GOATS FROM HIGHLANDS OF TAMAULIPAS, MEXICO

Barrón LO<sup>1</sup>, Chávez SJ<sup>1</sup>, Cruz BL<sup>2</sup>, Torres RL<sup>1\*</sup>, Zapata CC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia "Norberto Treviño Zapata", Universidad Autónoma de Tamaulipas. Carretera Victoria- Mante Km 5. Cd Victoria, Tamaulipas, México.

<sup>2</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km. 25. Carretera Villahermosa-Teapa. Teapa, Tabasco, México.

\*ltorres@uat.edu.mx

Palabras clave: *Eimeria*, *Strongylidae*, cabras.

#### Introducción

La caprinocultura en México, se encuentra distribuida en 4 grandes regiones: la región húmeda en donde hay 1.960.000 ha destinadas a la caprinocultura (1%), la región sub-húmeda 9.800.000 ha (5%), la región semiárida 80.700.000 ha (31%) y la región árida 123.480.000 ha (63%). El sistema de producción caprino extensivo o tradicional, es el más utilizado por sus bajos costos de producción, significado social y por el uso de amplias zonas de arbustos de las zonas áridas; así como para la producción de cabrito, el cual es uno de los platillos principales en México. Aunque las cabras contribuyen modestamente a la producción nacional de leche y carne son importantes desde el punto de vista social ya que representa un medio de ingreso y fuente de alimentos para numerosas familias campesinas, principalmente en las zonas áridas y semiáridas del norte de nuestro país. Sin embargo, la mayor parte de las cabras en México, se manejan en condiciones extensivas de pastoreo, lo que trae como consecuencias índices productivos y reproductivos bajos (Torres-Hernández, 2005). El estado de Tamaulipas pertenece a la región árida y semiárida, con una extensión territorial de 8.017.468 ha, dividido en una diversidad de climas, lo cual ha generado ecorregiones que han permitido la explotación extensiva (pastoreo) de cabras (INEGI, 2015). La producción de cabras presenta factores que afectan el desarrollo adecuado de su explotación. Dentro de estos factores se encuentran principalmente las enfermedades de origen parasitario. En las cuales podemos encontrar nematodos, cestodos y protozoarios. Las afecciones por parásitos gastrointestinales son consideradas como causa importante de pérdida en la productividad caprina, debido a daños tales como morbilidad y mortalidad de animales, reducción de los niveles de producción y productividad, alteraciones reproductivas y altos costos de control por medio de medicamentos (Kenyon *et al.*, 2014; Vercruyssen *et al.*, 2018). Existen pocas investigaciones sobre presencia de parásitos gastrointestinales en la región del altiplano ya que hay poco interés en el tema y la información existente no es actualizada. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es determinar la frecuencia de huevos de parásitos gastrointestinales en cabras pertenecientes a la zona del altiplano de Tamaulipas, México.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Materiales y métodos

### *Lugar de estudio*

El trabajo de investigación se realizó en el Altiplano Tamaulipeco (AT), que se encuentra localizado al sureste del estado de Tamaulipas, México y comprende los municipios de Bustamante, Jaumave, Tula, Miquihuana y Palmillas. El AT se caracteriza por estar rodeado de sierras, llanuras y mesetas de la Sierra Madre Oriental. Su principal vegetación es matorral y bosque. Se localiza en las coordenadas 22°75'N y 99°45'O. La altitud es de 300 a 3600 msnm, la temperatura promedio es de 15.5°C con una mínima promedio de 8°C en invierno y máxima promedio de 24°C en primavera. Su precipitación promedio anual es de 780 mm<sup>3</sup> (INEGI, 2015). Esta zona se caracteriza por albergar el 40.3% de la producción caprina del estado. Este sistema de producción se caracteriza por ser de traspatio con mano de obra familiar, en donde el pastoreo de las cabras se realiza en tierras comunales en sistemas ejidales. Las cabras consumen principalmente arbustos del género de *Acacias sp*, *Fraximus greggii*, *Rhusmicrophylla*, *Senna wislizeni*, *Celtis laevigata*, *Prosopis sp*, *Yucca filifera*, *Calyptocarpus vialis*, *Zaluzania triloba* (Alva-Pérez *et al.*, 2019).

### *Diseño experimental y toma de muestras*

El experimento se realizó en los municipios de Tula, Miquihuana y Bustamante. La población caprina en esos municipios de 29, 830; 4, 524 y 27, 913 respectivamente (CSPCET, 2012). Se realizó un muestreo por conveniencia a 309 cabras. Los animales a muestrear fueron seleccionados de una lista otorgada por los Médicos Veterinarios Zootecnistas que prestan sus servicios profesionales como parte del Componente de Extensionismo del Programa de Apoyo a Pequeños Productores (CEPAPP, SAGARPA Desarrollo Rural de Tamaulipas) y que estuvieron interesados en participar. Se realizó un muestreo de heces tomados directamente del recto del animal mediante una bolsa de polietileno; la cantidad de heces a muestrear por animal fue de aproximadamente 4 g. Las muestras se identificaron en forma individual con los datos del animal y del productor, fueron transportadas al área de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, donde se hicieron los exámenes coproparasitoscópicos, mediante la técnica de McMaster modificada con solución glucosada como medio de flotación (Rodríguez-Vivas, 1994). La intensidad de infección se determinó multiplicando por 50 la cantidad de huevos y ooquistes contabilizados en los dos retículos de la cámara, que es el factor estandarizado para esta técnica (Sandoval *et al.*, 2011). Los géneros de nematodos y coccidias fueron identificados por la morfología y tamaño de sus huevos y ooquistes (Fiel *et al.*, 2011), empleando un microscopio óptico de luz con magnificación de 10 y 40x.

### *Análisis de datos*

Se estableció como animal positivo con al menos un huevo de parásito gastrointestinal encontrado, se analizó los datos con estadística descriptiva para determinar media, desviación estándar y porcentaje de positividad y conteo de huevos. Se realizó una prueba de chi-cuadrada para determinar si la edad, la raza y la desparasitación previa se asociaban a la presencia de los huevos de parásitos gastrointestinales. La estadística se realizó mediante el programa IBM SPSS Statistic 22.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Resultados

Se muestrearon 309 cabras de las cuales, 101 presentaron un tipo de huevo, 126 cabras dos distintos tipos de huevos, 32 cabras con tres tipos distintos y solo 3 cabras con cuatro tipos diferentes de huevos de parásitos gastrointestinal. En general 262 animales presentaron al menos un huevo en el conteo McMaster. En el cuadro 1 se puede observar que el tipo de huevo con mayor presencia fueron los ooquistes de *Eimeria* con 65.7%, seguido de Huevos de *Strongylidae* con un 50.5%, el de menor presencia fueron los huevos de *Trichuris* con 3.9%. Con respecto al promedio de huevos encontrados los ooquistes de *Eimeria* fueron los más numerosos con 281.9 promedio, seguido de huevos de *Strongylidae* con un promedio de 96.1 y el de menos número fueron los huevos de *Moniezia* con 7.28 huevos por gramo de heces (Cuadro 1).

Cuadro 1. Positividad de animales y promedio de huevos por gramo de heces (HPG) de parásitos gastrointestinales según la clasificación taxonómica en cabras del altiplano tamaulipeco.

Nematodo	Animales positivos	Porcentaje de positivos	Promedio HPG
Huevos de <i>Trichuris</i>	12	3.9	2.91± 18.2
Huevos de <i>Strongyloides</i>	57	18.4	18.2±45.7
Huevos de <i>Moniezia</i>	26	8.4	7.28±30.7
Huevos de <i>Strongylidae</i>	156	50.5	96.1±175.4
Ooquiste de <i>Eimeria</i>	200	65.7	281.9±1100
Total	262	84	

En lo referente a las variables que podrían asociarse a la presencia de huevos de parásitos gastrointestinales, raza, edad y desparasitación previa, se observó mayor positividad en animales de raza criolla a comparación de la especializada lechera (Saanen, Toggenburg, Alpina), sin embargo esto no fue significativo ( $P>0.05$ ); en cuanto a los grupos etarios, no se encontró asociación estadística entre la positividad de la infección con respecto a la edad de los animales ( $P<0.05$ ). Por otro lado, de acuerdo al historial de desparasitación, se observó presencia de huevos en 175 animales con desparasitación al menos dos meses antes del estudio y en 87 animales sin historial de desparasitación, sin embargo esto no fue significativo ( $P>0.05$ ) (Cuadro 2).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 2. Variables que se asocian a la positividad de la presencia de huevos de nematodos en cabras del altiplano tamaulipeco.

Variable	No. de animales	No. de animales positivos (%)	Valor de P
<b>Raza</b>			
<i>Raza criolla</i>	248	215 (69.6)	0.060
<i>Especializada lechera</i>	61	33 (10.7)	
<b>Edad</b>			
<24 meses	108	97 (31.4)	0.027
24-36 meses	112	97 (31.4)	
>36 meses	89	68 (22)	
<b>Desparasitación previa</b>			
<i>Si</i>	205	175 (56.6)	0.069
<i>No</i>	104	87 (28.2)	

### Discusión

Existen diversos factores que pueden influir en la presencia de huevos de parásitos gastrointestinales en las cabras, dichos factores son: el clima, condiciones de higiene de las instalaciones, raza de la cabra, manejo nutricional y el uso o abuso de desparasitantes, así como la población de parásitos en refugio. A pesar que el presente trabajo de investigación no midió, el efecto de estos factores, es importante tomarlos en cuenta para la interpretación de los resultados. En el presente trabajo de investigación, se muestrearon en total 309 cabras. De estas, 200 muestras resultaron positivas a huevos de *Eimeria* y a su vez 156 resultaron positivos a *Strongylidae*. El valor de frecuencia de huevos de *Eimeria* fue diferente al encontrado en la zona de Pradesh, India de 3.02%, los autores mencionan que influyó en su estudio la época del año ya que en épocas de invierno hay más animales infectados que en épocas de lluvia (Singh *et al.*, 2015). La presencia de humedad provoca la preservación tanto de ooquistes como de huevecillos de nematodos en el agostadero y en las instalaciones (Soulsby, 1987). En México, estudios realizados en Yucatán, se encontró una prevalencia de protozoarios del 93.4% (Rodríguez-Vivas, *et al.*, 2001), esto es más alto que los valores encontrados en esta investigación mientras que en Baja California Sur se encontró una prevalencia del 30% siendo menor al valor encontrado (Cepeda *et al.*, 2012). En la época en la que se realizó el muestreo en el presente trabajo de investigación fue en verano con valores medios de precipitación (600-1200 mmm) (CONAGUA, 2019), sin embargo, las cabras al pastar se dirigen a pequeños bordos donde la humedad es prevaeciente y las condiciones higiénicas son mínimas, factor que podría influir en el valor encontrado para este trabajo de investigación. Con respecto a nematodos se han encontrado valores de positividad de 29 a 100% (Nwosu *et al.*, 2007; Herrera *et al.*, 2013). El daño que ejerce la presencia de nematodos varía según diversos factores, por ejemplo, el estado de la larva, su forma de alimentación (hematófaga), mucosa con contenido intestinal o gástrico, tamaño del parásito, capacidad de infiltrar los tejidos con sustancian anticoagulante, así





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

también, la condición general del huésped si es primo infestación o reinfección, estado nutritivo, reproductivo, especie, edad y la cantidad de huevos por gramo de heces (Quiroz, 2006). Un aspecto que se pudo observar con los productores de las cabras es que en su mayoría el control de la parasitosis la realiza con el uso de antihelmínticos, sin saber qué tipo de parásito y cantidad está presente en los animales, y sobre todo cuando realizar la desparasitación. Por lo tanto, el diagnóstico de las parasitosis sigue siendo la herramienta adecuada para la decisión de desparasitar, sin embargo resulta un factor a resolver en los sistemas de producción en extensivo y alejados de los centros de diagnóstico.

### Conclusiones

Realizar estudios epidemiológicos completos, en distintas zonas del altiplano, épocas del año y técnicas de coprocultivo para obtener información amplia de la situación de la parasitosis en esta región de producción caprina.

### Referencias bibliográficas

- Sandoval, E., Morales, G., Ybarra, N., Barrios, M., y Borges, J. 2011. Comparación entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nematodos gastroentéricos en rumiantes. *Zootecnia Tropical*, (29), 495-501.
- Fiel, C., Steffan, P., y Ferreyra, P. 2011. Diagnóstico más frecuente de las parasitosis de los rumiantes: técnicas de laboratorio e interpretación de resultados. Buenos Aires. Argentina: Pfizer.
- Quiroz, R.H. 2006. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. México, D. F., México: Ed. Limusa.
- Singh, A.K., Das, G., Roy, B., Nath, S., Naresh, R., and Kumar, S. 2015. Prevalence of gastrointestinal parasitic infections in goat of Madhya Pradesh, India. *Journal of Parasitic Disease*, (39), 716-719. DOI:<https://doi.org/10.1007/s12639-014-0420-z>
- Soulsby, E.J. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. México, DF, México: Ed. Interamericana.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Cob-Galera, L.A., and Domínguez-Alpizar, J.L. 2001. Frequency of gastrointestinal parasites in domestic animals, diagnosed in Yucatan, Mexico. *Revista Biomédica*, (12). Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2001/bio011d.pdf>
- Herrera, L., Ríos, L., y Zapata, R. 2013. Frecuencia de infección por nematodos gastrointestinales en ovinos y caprinos de cinco municipios de Antioquia. *Revista MVZ Córdoba*, (18), 3851-3860.
- Nwosu, C.O., Madu, P.P., and Richards, W.S. 2007. Prevalence and seasonal changes in the population of gastrointestinal nematodes of small ruminants in the semi-arid zone of North-Eastern Nigeria. *Veterinary parasitology*, (144), 118-24. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.004>
- Rodríguez, V.R., Domínguez, A.J., y Cob, G.L. 1994. *Técnicas Diagnósticas de Parasitología Veterinaria*. Mérida, Yucatán, México. Editorial: Universidad Autónoma de Yucatán.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Alva-Pérez, J., López-Corona, L.E., Zapata-Campos, C.C., Vázquez-Villanueva, J. y Barrios-García, H. B. 2019. Condiciones productivas y zoonositarias de la producción caprina en el Altiplano de Tamaulipas, México.
- INEGI. 2015. Anuario Estadístico y Geográfico de Tamaulipas. Instituto Nacional de Geografía y Estadística. Aguascalientes, México. 521 pp
- CSPCT (2012) Plan Rector. Comité Sistema Producto Caprino de Tamaulipas. Ciudad Victoria Tamaulipas México. 59 pp
- Vercruysse, J., Charlier, J., van Dijk, J., Morgan, E.R., Geary, T., von Samson-Himmelstjerna, G. and Claerebout, E. 2018. Control of helminth ruminant infections by 2030. *Parasitology*, (145), 1655-1664. DOI: <https://doi.org/10.1017/S003118201700227X>
- Kenyon, F., McBean, D., Greer, A.W, Burgess, C.G.S., Morrison, A.A., Bartley, D.J., Bartley, Y., Devin, L., Nath, M., and Jackson, F. 2013. A comparative study of the effects of four treatment regimes on ivermectin efficacy, body weight and pasture contamination in lambs naturally infected with gastrointestinal nematodes in Scotland. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, (3), 77-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2013.02.001>



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## RECONOCIMIENTO DE LOS ANTÍGENOS DE EXCRECIÓN Y SECRECIÓN DEL NEMATODO *Haemonchus placei* (L<sub>4</sub>) POR IgG DE BOVINO

### EXCRETORY/SECRETORY ANTIGEN RECOGNITION BY IgG ON NATURALLY INFECTED CALVES WITH *Haemonchus placei* NEMATODE.

Bautista GGA\*<sup>1</sup>, López AME<sup>2</sup>, Maza LJ<sup>2</sup>, Ramírez VG<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Politécnica del Estado de Morelos, México. <sup>2</sup>CENID SAI-INIFAP, México. mlopez\_arellano@hotmail.com

Palabras clave: *Haemonchus placei*, IgG, excreción-secreción.

#### Introducción

Los parásitos son patógenos con características biológicas diversas con la capacidad de adaptarse a su hospedero a través de mecanismos de evasión inmune. El género *Haemonchus spp.* es el nematodo más patógeno de la familia *Trichostrongylidae* por su hábito hematófago. El mecanismo de infección para las diferentes especies de *Haemonchus*, se debe principalmente a la producción y actividad de diversas proteasas. La secreción de enzimas representa un factor importante para la sobrevivencia de *Haemonchus spp.*, así como para activar mecanismos inmunes. Estudios realizados por Maza (2018) observaron incremento de citocinas regulatorias (*IL-10*) e inflamatorias (*IL-6* e *IL-8*) y receptor de inmunoglobulina E (*FCεR1A*), utilizando ESP de 50-90 kDa obtenidos de *H. placei* L<sub>4</sub>. El presente trabajo contribuyó en el estudio de características inmunes asociadas a la infección por *H. placei* en bovinos jóvenes como parte del conocimiento en la interacción hospedero-parásito.

#### Material y Métodos

Localización: La colecta de muestras (heces y sangre) de becerros infectados se realizó en la FMVZ de la UNAM, en Martínez de la Torre, Veracruz.

Cultivo *in vitro* de L<sub>3</sub>-L<sub>4</sub> y obtención y confirmación de los ESP: El desarrollo de L<sub>3</sub> a L<sub>4</sub> *in vitro* se realizó a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> en medio de cultivo Hank's, Antibiótico-Antimicótico, Anfotericina y Eritrocitos (lavados con VyM) por 21 días, obteniendo los ESP a las 48 h, 4, 7, 9, 11, 14, 17, 19 y 21 días. Los ESP se separaron en SDS-PAGE al 5 y 12% para la confirmación de proteínas.

Inmunoensayo enzimático (iELISA): El inmunoensayo enzimático se llevó a cabo con la titulación de ESP, suero y conjugado anti-IgG de bovino en placas de poliestireno.

Inmunotransferencia: La inmunotransferencia se realizó previamente titulando los sueros y conjugado anti-IgG marcado con peroxidasa

#### Resultados

Se observó una media 259±76 de HPG durante las 10 semanas de evaluación, los datos por semana se muestran en la gráfica 1.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

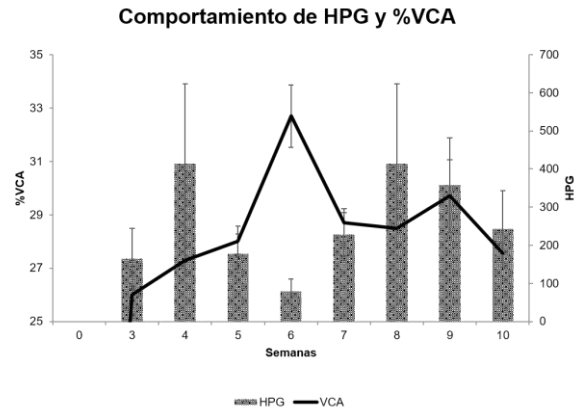
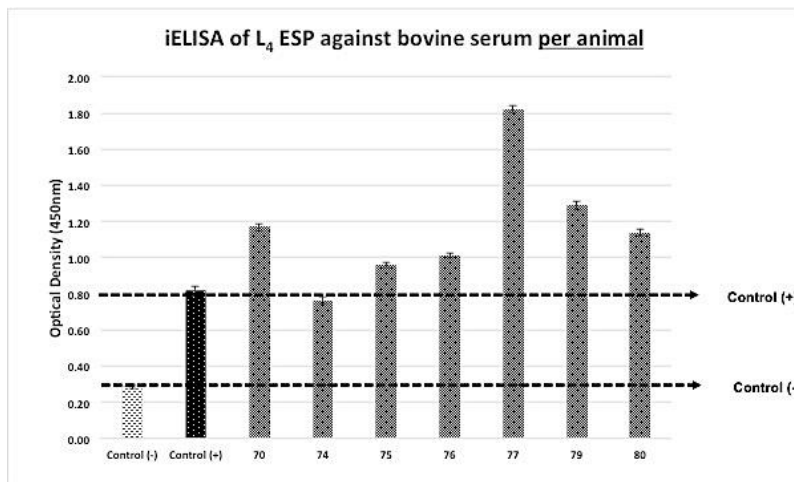


Gráfico 1 El promedio de HPG y VCA obtenido por semana (n=8). El número de HPG indica la intensidad de la infección por *H. placei* y el VCA muestra el estado fisiológico de cada animal infectado, o posiblemente afectado por otro factor (ambiental/manejo). Se podrá observar valores mínimo y máximo entre 79-414 y 26-32 % para HPG y VCA, respectivamente.



Animal	OD ± SE
C (-)	0.285 ± 0.010
70	1.170 ± 0.020
74	0.762 ± 0.019
75	0.961 ± 0.016
76	1.013 ± 0.015
77	1.822 ± 0.019
79	1.288 ± 0.024
80	1.136 ± 0.018
C (+)	0.831 ± 0.025

Gráfico 2 Nivel de reconocimiento de IgG por individuo. Con base en el seguimiento de la infección con *H. placei* para los individuos infectados los niveles de IgG anti-ESP de L<sub>4</sub> incrementó la media de absorbancia para algunos individuos con bajo nivel de hpg, ej. individuo número 77. Así mismo, se determinó una correlación positiva de 49% entre la OD's y los periodos analizados.

El reconocimiento específico de IgG en respuesta a los ESP de *H. placei* L<sub>4</sub> incrementó 49% entre semanas (p<0.0001), además se pueden observar diferencias entre individuos, el individuo 77 muestra menor HPG con mayor OD, en contraste el individuo 74 muestra mayor número de HPG con menor OD (0.83). Respecto a la inmunotransferencia todos los individuos reconocieron los ESP de 15 kDa y 70 kDa (Fig. 1).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

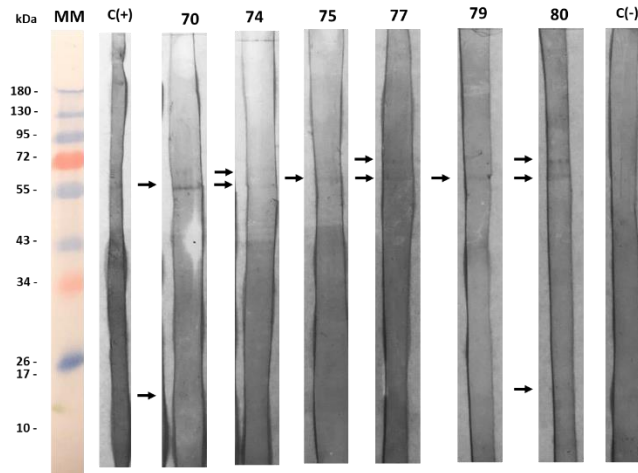


Figura 1 Reconocimiento de antígeno-anticuerpo por ESP de *H. placei*. Reconocimiento de antígeno ESP de 70 kDa mayoritariamente con dos individuos 70 y 80 reconociendo una banda de 15 kDa.

### Discusión

La infección inducida en bovinos jóvenes mostró variaciones en el nivel de infección por este nematodo, observándose valores parasitológicos entre 70 y 500 HPG, manteniendo una media del 28% de VCA en todos los individuos. El reconocimiento de IgG a productos de secreción, 15 y 70 kDa se observó en muestras de animales experimentales con mayor OD, significativas al compararse con los controles. Similares estudios fueron notificados por otros autores (Schalling, H *et al.*, 1997, Vercauteren, I *et al.*, 2004 y Craig, *et al.*, 2006) al evaluar ESP derivados de nematodos hematófagos *H. contortus*, *Osteortagia* y *Teladorsagia*. Los ESP de 15 y 70 kDa son comparables con los que notifica Schalling *et al* (1997), al reconocer inmunoglobulinas que inducir alto nivel de protección al disminuir 90% el número de hpg, así como la reducción de nematodos adultos. Una de las estrategias para responder ante estas infecciones es a través de factores inmunes como son las Ig's asociadas a protección bajo el estímulo de productos altamente antigénicos, como podrían ser los ESP. Los ESP de 15 y 70 kDa evaluados con anti-IgG de bovino fueron reconocidos por los bovinos infectados con *H. placei*, indicando la participación de esta IgG durante la patogénesis del nematodo. El control de la infección a este parásito se observó asociada a la IgG, donde el nivel de IgG incremento en respuesta inmune a la infección (ej. 77).

### Conclusión

En el presente trabajo se logró detectar diversos productos de secreción reconocidos por la IgG, lo importante es que esta inmunoglobulina fue recolectada de animales que recibieron una primo infección con el nematodo *H. placei*, lo que sugiere que posiblemente estos antígenos reconocidos durante este primer periodo podrían estar asociados con la invasión y desarrollo de nematodo, pero se requiere mayor número de estudios para su confirmación.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Barba Guadarrama, Y.M. 2016. Expresión relativa de citocinas en respuesta a productos de excreción y secreción del nematodo de bovinos *Haemonchus placei* in vitro.
- Bautista García, G.A. 2019. Reconocimiento de los antígenos de excreción y secreción del nematodo *Haemonchus placei* (L4) por IgG de bovino.
- Craig, H., Wastling, J., & Knox, D. (2006). A preliminary proteomic survey of the in vitro excretory secretory products of fourth-stage larval and adult *Teladorsagia circumcincta*. *Parasitology*.. 535-543. United Kingdom Cambridge University Press
- Maza Lopez, J. 2018. Proliferación celular de dos productos de secreción de *Haemonchus placei* con posible actividad en la interacción hospedero-parásito. 214-218. Memorias Presentaciones Cortas.
- Schalling, H., Van, L., & Cornelissen, A. (1997). Protective immunity induced by vaccination with two *Haemonchus contortus* excretory secretory proteins in sheep. 19 (10): 447-453. *Parasite Immunol*,
- Vercauteren, I., Geldhof, P., Vercruyse, J., Peelaers, I., Broeck, D., Gevaent, K., y otros. (May 2004). Vaccination with on *Ostertagia ostertagi* Polyprotein Allergen Protects Calves against Hoologous Challenge Infection. *Infection and Immunity: American society for Microbiology*, 2995-3001.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## MIGRACIÓN VERTICAL DE LARVAS INFECTIVAS DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE BOVINOS EN PASTOREO EN VERACRÚZ, MÉXICO.

### VERTICAL MIGRATION OF GASTROINTESTINAL NEMATODES INFECTIVE LARVAE OF CATTLE ON PASTURES FROM VERACRÚZ, MÉXICO.

Castellanos CJA<sup>a</sup>, Ortega VS<sup>a</sup>, Vega AN<sup>a</sup>, Quiroz RH<sup>a\*</sup>.

<sup>a</sup> Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Ciudad de México, México.

\*hquiroz@unam.mx

Palabras clave: Larvas, Nematodos gastrointestinales, migración vertical, pasto.

#### Resumen

El objetivo fue determinar la cantidad de larvas infectivas de nematodos gastrointestinales (NGI) en migración vertical en el pasto durante las 24 hs del día en una zona con clima cálido húmedo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), Veracruz, México. Materiales y métodos. Se colectaron muestras de pasto (250g) de cinco transectos de un potrero con bovinos en pastoreo, en el CEIEGT, Martínez de la Torre, Veracruz, México. Los muestreos de pasto se realizaron cada tres horas, durante 24 hrs., cada mes, de junio a noviembre. Se emplearon las técnicas de sedimentación, cuantificación e identificación de géneros de NGI. Resultados. De 24h de análisis se encontró que la mayor cantidad de larvas de NGI fue a las 9:00h, el cual disminuyó progresivamente en los muestreos de las 12h., 15h., 18h, 21h, 0:00h y 3:00h. Los géneros de larvas de NGI identificados fueron *Strongyloides papillosus* ( $2.49 \pm 8.58$ ), siguiendo en orden decreciente *Haemonchus spp.* ( $1.02 \pm 1.90$ ), *Cooperia spp* ( $0.20 \pm 0.56$ ), *Trichostrongylus spp* ( $0.10 \pm 0.38$ ), *Ostertagia spp* ( $0.07 \pm 0.35$ ) y *Bunostomum spp* ( $0.07 \pm 0.35$ ). Durante la evaluación mensual de Junio-Noviembre, se encontró a *Strongyloides papillosus* y *Haemonchus spp.* en todo el periodo de estudio; *Cooperia spp* en Junio-Septiembre; *Trichostrongylus spp* de Junio-Septiembre y Noviembre; *Bunostomum spp* en Agosto, Septiembre y Noviembre; *Ostertagia spp* en Agosto-Septiembre.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## COMPARACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INFECCIÓN POR NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN OVINOS DE DIFERENTES RAZAS

### COMPARISON OF GASTROINTESTINAL NEMATODE RESISTANCE BETWEEN DIFFERENT SHEEP BREEDS

Castellanos-Vázquez JG<sup>1</sup>, Cervantes-Morali J<sup>2</sup>, Ullóa-Arvízu R<sup>3</sup>, Martínez-Ortíz de Montellano C<sup>\*1</sup> y  
Figueroa-Castillo JA<sup>1</sup>,

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Av.  
Universidad 3000. Ciudad Universitaria. Coyoacán. CP 04510. CdMX.

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología <sup>2</sup>Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción  
Ovina. <sup>3</sup>Depto. de Genética y Bioestadística. ficajuan@unam.mx

Palabras clave: Ovinos, nematodos gastrointestinales, resistencia a nematodos

#### Resumen

Una de las formas de medir el grado de resistencia a la infección con nematodos gastrointestinales (NGI) en ovinos, consiste en cuantificar la eliminación de huevos en las heces. Con el objetivo de comparar el grado de resistencia a la infección natural con NGI entre cuatro razas ovinas y una cruce, se utilizaron los resultados de los exámenes coproparasitoscópicos realizados al rebaño del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina de la UNAM. Se consideraron los datos de eliminación de huevos de estrogilidos (determinados por McMaster) de 177 ovejas de las razas Dorset (n 35), Suffolk (n 45), Hampshire (n 34), Katahdin (n 40) y cruces F1 (Dorset x East Friesian) (n 23), que fueron examinadas del mes de junio del 2016 a enero 2017. Los datos se analizaron mediante el procedimiento de estimación de ecuación generalizada, en un modelo de medidas repetidas. Las medias estimadas marginales y error estándar de la eliminación de huevos de NGI para las diferentes razas, fueron: Dorset ( $474 \pm 134^{bc}$ ), F1 ( $193 \pm 53^{ab}$ ), Hampshire ( $546 \pm 111^c$ ), Katahdin ( $73 \pm 16^a$ ), Suffolk ( $903 \pm 180^c$ ), (literales distintas indican diferencias estadísticas para razas  $P < 0.05$  con ajuste de Bonferroni). La raza Katahdin y la F1 presentaron los valores de eliminación de huevos más bajos, sin diferencias estadísticas entre ellas ( $P = 0.24$ ), pero sí con Dorset ( $P = 0.015$ ) y con Hampshire y Suffolk ( $P < 0.0001$ ). La cruce F1 presentó valores similares a la Dorset ( $P = 0.15$ ) pero fue inferior al Hampshire y Suffolk ( $P < 0.01$ ); mientras que entre las razas de origen inglés no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ). Mediante cultivo larvario, se identificaron siete géneros de estrogilidos: *Haemonchus* (57%), *Trichostrongylus* (16.6%), *Cooperia* (11.1%), *Oesophagostomum* (7.5%), *Teladorsagia* (4.5%), *Chabertia ovina* (1.6%) y *Nematodirus* (1.5%). Se concluye que existen diferencias en la resistencia a la infección natural con estrogilidos entre las razas ovinas comparadas y que la raza Katahdin fue más resistente que la Suffolk, Hampshire y Dorset, lo cual concuerda con otros estudios que señalan que las razas de pelo son más resistentes que las ovejas de lana.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## FRECUENCIA DE *Ostertagia* Y OTROS NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN BOVINOS LOCALIZADOS EN TEXCOCO, MÉXICO

## FREQUENCY OF *Ostertagia* AND GASTROINTESTINAL NEMATODES OF BOVINES FROM TEXCOCO, MEXICO.

Castillo LLA<sup>a</sup>, Ortega VS<sup>a</sup>, Villaseñor ML<sup>a</sup>, Quiroz RH<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

\*hquiroz@unam.mx

Palabras clave: frecuencia, *Ostertagia*, nematodos gastrointestinales, bovino lechero.

### Resumen

El conocimiento de la frecuencia y variación estacional de los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales (NGI) en las regiones templadas de México, en donde se cría ganado lechero, se considera importante para evaluar el problema y en su caso controlarlo. El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia y los diferentes géneros de NGI en ganado bovino lechero en sistemas semi-estabulado y estabulado de seis poblados de Texcoco, México. Materiales y Métodos. Muestras de heces se colectaron directamente del recto de 411 vacas raza *Holstein*, pertenecientes a 26 establos situados en los poblados de Nexquipayac, San Felipe, Santa Isabel, Netzahualcoyolt, San Bernardino y Xocotlán del municipio de Texcoco, Estado de México. Las muestras se analizaron por la técnica de *McMaster*, aquellas positivas a huevos de NGI, se les realizó coprocultivo para la identificación morfológica de larvas en estadio 3 (L3), de los diferentes géneros. Resultados. De los 15 establos bajo sistema semi-estabulado, se examinaron 228 muestras de heces, de las cuales 111 fueron positivas a más de 50 huevos por gramo de heces (hpg) de NGI, representando el 53.81% con una mínima de 12% y máxima del 69.9%. De 11 establos bajo condiciones de estabulación permanente, se examinaron 183 muestras de heces, 59 muestras fueron positivas a hpg de NGI, representando al 37.68%, con una mínima de 23.5% y máxima de 47% de hpg. Los géneros identificados fueron *Ostertagia* en el 100 % de los establos, *Cooperia* en el 73 % (19 establos), *Haemonchus* y *Bunostomum* 19.2 % (5 establos). Conclusión. La presencia de larvas del género *Ostertagia* en todos los establos analizados, hace suponer que la importación de ganado lechero de Estados Unidos y Canadá jugó un papel importante, ya que en estos países la ostertagiosis es una nematodosis predominante.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CUANTIFICACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE P-GLICOPROTEÍNAS EN LARVAS INFECTANTES (L<sub>3</sub>) DE *Haemonchus contortus* RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE A IVERMECTINA

### QUANTIFICATION OF THE TRANSCRIPTION OF P-GLICOPROTEINS IN INFECTIVE STAGES (L<sub>3</sub>) OF *Haemonchus contortus* RESISTANT AND SUSCEPTIBLE TO IVERMECTIN

\*Cedillo BM<sup>1</sup>, Reyes GDE<sup>1</sup>, López AME<sup>1</sup>, Alonso MRA<sup>2</sup>, Alonso DMA<sup>3</sup>, Olmedo JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Helminología, CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - UNAM, Cd. Universitaria, México. <sup>3</sup>Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical – UNAM, Tlapacoyan, Veracruz

m.cedillo2105@gmail.com; reyes.david@inifap.gob.mx

Palabras clave *H. contortus*, Resistencia antihelmíntica, P-Glicoproteínas

#### Introducción

*Haemonchus contortus* es un nematodo gastrointestinal que se caracteriza por su hábito de hematofagia y se localiza en el abomaso de los rumiantes, causa un grave daño al tejido gástrico y se encuentra en mayor número en aquellos individuos jóvenes los cuales son afectados por anemia y diarrea que puede ocasionar la muerte del animal (González-Garduño *et al.*, 2012). El género *Haemonchus* es altamente patógeno en época de lluvias, con altas prevalencias en México en regiones de climas tropicales y subtropicales. Su ciclo de vida es directo y consta de dos etapas, exógena y endógena. La principal opción para su control es con fármacos antihelmínticos como son los derivados de las LM, entre los que se encuentra la IVM, pero su uso inadecuado y excesivo ha provocado el cambio genético en ngi para desarrollar RA, como alteraciones de la proteína diana, disminución de la permeabilidad de la membrana (Ardelli, 2013) o sobreexpresión de genes asociados a la detoxificación del nematodo como son las P-gp asociadas a la resistencia a múltiples drogas (Whittaker *et al.*, 2016). Su modo de acción de las P-gp comienza cuando las drogas que entran en la célula son expulsadas al exterior a través del poro que forman estas proteínas, las cuales son dependientes de la energía liberada por la hidrólisis del ATP (Ballent *et al.* 2005). Estudios relacionados con la RA que presenta *H. contortus*, indican que el constante tratamiento con LM como la IVM al que son sometidos los ngi, han permitido la selección de genes codificantes de P-gp, y otros como algunos canales iónicos (Whittaker *et al.*, 2016; Laing *et al.*, 2013), encontrándose cambios en la regulación de la expresión de los genes P-gp 1, 2, 9, 16 y 17 asociados a la resistencia a LM en distintos géneros de ngi (*Haemonchus*, *Cooperia*, *Teladorsagia*) (Whittaker *et al.*, 2016; Kotze & Prichard, 2016).

#### Objetivo

Determinar y comparar el nivel de transcripción de diez genes funcionales de *P-glicoproteínas* (1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 14, 16) en larvas infectantes del nematodo hematófago *H. contortus* resistente y susceptible a ivermectina mediante RT-qPCR,



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Materiales y métodos

Germoplasma: *Haemonchus contortus*

El aislado resistente se obtuvo de una población de ngi de la región Salto de Agua, Chiapas, caracterizada como resistente a IVM mediante pruebas de campo (González-Garduño et al., 2012), a partir de la cual se llevó a cabo un monocultivo de *H. contortus*. El aislado susceptible no ha sido presionado a IVM, desde su obtención en campo en 1990 y se ha mantenido en el CENID-SAI, INIFAP. Se llevó a cabo la identificación molecular de los géneros presentes en la población resistente a IVM y así mismo se confirmó el monocultivo de *H. contortus* mediante ensayos de PCR multiplex, utilizando oligonucleótidos de regiones conservadas de DNA ribosomal del complejo de ngi de rumiantes.

Evaluación *in vitro* del efecto letal de IVM sobre *H. contortus* (L<sub>3</sub>)

Se realizaron ensayos *in vitro* con L<sub>3</sub> sin vainas de ambos aislados de *H. contortus*, confrontándolas con 4 diluciones seriadas de 10 a 1.25 mg/mL de IVM grado analítico (SIGMA) a las 72 horas de acción, teniendo como controles agua y detergente aniónico con el cual se solubilizó la IVM. Se realizaron tres réplicas con tres repeticiones (n=9) y se usaron placas de micro-titulación de 96 pozos con 200 L<sub>3</sub>. Al término del periodo de confrontación, se procedió a registrar la cantidad de larvas muertas y vivas del total de cada pozo a través de alícuotas de 10 µL, utilizando un microscopio óptico con un aumento de 4X. Se determinó el porcentaje de mortalidad larvaria para cada tratamiento. Se analizaron los resultados a través de un análisis de varianza bi-factorial mediante un diseño completamente al azar y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% (p<0.05) en el programa estadístico SAS.

Expresión génica de *P-gp* en *H. contortus* (L<sub>3</sub>) resistente y susceptible a IVM

Se llevó a cabo la extracción de RNA total a partir de L<sub>3</sub> de *H. contortus*, previamente lavadas, desenvainadas y maceradas, utilizando el reactivo Trizol® (Thermo Fisher Scientific, USA). Posteriormente, se realizó la síntesis de cDNA mediante kit comercial (PROMEGA) a partir de 300 ng de RNA total extraído.

Se realizaron reacciones de qPCR individuales de ambos aislados de *H. contortus* de los genes *P-gp* 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 14 y 16; y de los genes constitutivos *GAPDH* y *β-tubulina*. El análisis de expresión génica se realizó con base en la normalización de los valores de Ct de los genes del aislado resistente respecto a los genes del aislado susceptible. Los valores de Ct fueron introducidos para su análisis en la plataforma web GeneGlobe Data Analysis Center de Qiagen®. En dicha plataforma, los datos de Ct de cada gen tanto del grupo control (susceptible) y de interés (resistente) fueron analizados automáticamente mediante una prueba de t-student a un nivel de significancia de 0.05 %.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Resultados y discusión

#### Gemoplasma: Identificación molecular de ngi

La identificación molecular de géneros de ngi resistentes a IVM obtenida de campo, confirma la presencia de los siguientes géneros: *Haemonchus*, *Cooperia* y *Trichostrongylus* con un tamaño de 176 pb, 151 pb y 243 pb, respectivamente. Así mismo, se confirmó el monocultivo de *H. contortus* resistente a IVM, reafirmando que se obtuvo un cultivo puro de *H. contortus*, libre de otros géneros de nematodos parásitos.

#### Evaluación *in vitro* del efecto letal de IVM sobre *H. contortus* L<sub>3</sub>

Los resultados obtenidos indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre concentraciones, así como entre aislados de *H. contortus*. Respecto a los controles (agua y detergente aniónico) se observaron porcentajes de mortalidad menores del 7% para ambos aislamientos. En contraste, los tratamientos con IVM en la cepa susceptible, muestran efecto letal significativo ( $p < 0.05$ ) de L<sub>3</sub> entre las concentraciones evaluadas a las 72 horas, respecto a los controles. La toxicidad de la IVM fue de 79.22 % a la concentración de 10 mg/mL. Por otro lado, los tratamientos con IVM en la cepa resistente, no mostraron efecto letal sobre L<sub>3</sub> ( $p > 0.05$ ) en ninguna de las concentraciones evaluadas a las 72 horas. Los resultados prueban la ausencia de toxicidad de la IVM en el aislado de *H. contortus* resistente en campo, los valores obtenidos fueron similares a los determinados en los controles (sin mortalidad). Esta evaluación (fenotipo) confirma la resistencia a IVM de una cepa de campo.

En este trabajo se evaluó el porcentaje de mortalidad, y no se notificaron los resultados como inhibición de la motilidad, debido a que éstas observaciones son muy subjetivas y no difieren significativamente entre diferentes aislados (George *et al.*, 2018). Además, es importante mencionar que la presión antihelmíntica a la que fue sometido el aislamiento de la cepa resistente fue bajo las condiciones de manejo antiparasitario que se están llevando a cabo en nuestro país, esto sugiere una posible modificación en genes asociados al mecanismo de acción del efecto de los antihelmínticos (Maté *et al.*, 2018). Cabe mencionar, que ambos aislados de *H. contortus* obtenidos se consideran como un importante material biológico de referencia, en el caso del aislado susceptible debido a la sensibilidad que posee a la IVM; y en el aislado resistente por el posible uso en el diagnóstico de resistencia a IVM en laboratorio, ya que hasta la fecha no existe diagnóstico alguno con la sensibilidad y especificidad necesaria (George *et al.*, 2018).

#### Expresión génica de genes *P-gp* en *H. contortus*

En la comparación de la expresión génica de *P-gp* evaluados sobre L<sub>3</sub> entre el aislado resistente respecto al susceptible a IVM, los valores de regulación de la expresión de los diferentes genes mostraron variaciones, clasificándose como baja expresión a los genes 2, 4, 10, 11, 12 y 14 que va de 0.06 a 0.4 veces menos con respecto a los genes de referencia y grupo control ( $p > 0.05$ ); normalizados a los genes 1, 3 y 9; y como sobre-expresado el gen *P-gp* 16 con un incremento en la regulación de la expresión de 9.38 veces más ( $p = 0.12$ ) en la cepa de *H. contortus* resistente a IVM. Kotze y Prichard, (2016), mencionan que debido a los problemas multigénicos de resistencia a ivermectina en nematodos es necesario identificar aquellos cambios en los genes que llevan a adaptaciones del fármaco. En el presente trabajo se evaluó el nivel de expresión relativa de 10 genes de *P-gp* de manera molecular. La determinación de los niveles de transcripción mostró como resultado la sobre-expresión de 9.38 veces más del gen *P-gp*16 en el aislado resistente con respecto



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

al aislado susceptible y genes constitutivos. Godoy, *et al* (2015) reportaron la alta afinidad de la *P-gp16* de *H. contortus* en el transporte extracelular de IVM en células de mamífero, debido a la estructura química que esta droga presenta, esto podría sugerir la sobreexpresión del gen *P-gp16* como candidato marcador molecular asociado al diagnóstico de resistencia a IVM. Cabe mencionar, que el estudio llevado a cabo de expresión génica fue con aislados de *H. contortus*, obtenidos de regiones específicas y presionados en campo, difiriendo con poblaciones de otros géneros de nematodos presionados en laboratorio, encontrándose distintos niveles de expresión de los genes aquí evaluados (Whittaker *et al.*, 2016).

### Conclusiones

- Se obtuvo un monocultivo de *H. contortus* a partir de una población de ngi resistente, como posible germoplasma de referencia.
- El aislado de *H. contortus* resistente evaluado en los ensayos *in vitro*, mostró poca sensibilidad a IVM, teniendo 5% de mortalidad a una concentración de 10 mg/mL. En contraste, el aislado susceptible mostró un 79.22% de mortalidad a la misma concentración.
- El gen *P-gp16* en el aislado de *H. contortus* resistente tuvo una sobreexpresión de 9.38 veces más con respecto a la cepa susceptible, siendo el gen con mayor regulación de los evaluados en el presente estudio.

### Referencias bibliográficas

- Ardelli, B.F. 2013. Transport proteins of the ABC systems superfamily and their role in drug action and resistance in nematodes. *Parasitology International*. 62: 639–46
- González-Garduño R, Torres-Hernández G, López-Arellano ME, Mendoza-de-Gives P. 2012. Resistencia antihelmíntica de nematodos parásitos en ovinos. *Revista de Geografía Agrícola*. 48-49: 63-74
- Ballent, M., Lifschitz, A., Virkel, G., Lanusse, C. (2005). Implicancias fisiofarmacológicas de la *glucoproteína-P* en animales domésticos. *Analecta veterinaria*. 25 (2): 36-47
- George, M. M., Lopez-Soberal, L., Storey, B. E., Howell, S. B., & Kaplan, R. M. (2018). Motility in the L3 stage is a poor phenotype for detecting and measuring resistance to avermectin/milbemycin drugs in gastrointestinal nematodes of livestock. *IJP: Drugs and Drug Resistance*. 8: 22–30
- Godoy, P., Che, H J., Beech, R.N., Prichard, R.K. (2015). Characterization of *Haemonchus contortus* P-glycoprotein-16 and its interaction with the macrocyclic lactone anthelmintics. *Mol Biochem Parasitol*. 204: 11-5
- Kotze AC, Prichard RK. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in parasitology*. 93: 397- 428.
- Laing, R., Kikuchi, T., Martinelli, A., Tsai, I.J., Beech, R.N., Redman, E., Holroyd, N., et al. (2013). The genome and transcriptome of *Haemonchus contortus*, a key model parasite for drug and vaccine discovery. *Genome Biol*. 14: 1-16
- Maté, L., Ballent, M., Cantón, C., Ceballos, L., Lifschitz, A., Lanusse, y C., Lirón, J. P. (2018). Assessment of P-glycoprotein gene expression in adult stage of *Haemonchus contortus* *in vivo* exposed to ivermectin. *UK: Veterinary Parasitology*. 264:1-7
- Whittaker JH, Carlson SA, Jones DE, Brewer MT. 2016. Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. doi: 10.1111/jvp.12330



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**MÉTODO FAMACHA®, CONDICIÓN CORPORAL Y CONTEO DE HUEVOS DE NEMATODOS EN HECES, COMO CRITERIOS DE DESPARASITACIÓN SELECTIVA EN CABRAS DE CD. VICTORIA, TAM.**

**FAMACHA®, BODY CONDITION SCORE AND FECAL EGG COUNT TEST AS A CRITERION FOR SELECTIVE DEWORMING IN GOATS FROM CD. VICTORIA, TAM.**

Cedillo VE<sup>1</sup>, Jasso OJ<sup>1</sup>, Cruz BL<sup>2</sup>, Torres RL<sup>1</sup>, Zapata CC<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia "Norberto Treviño Zapata", Universidad Autónoma de Tamaulipas. Carretera Victoria- Mante Km 5. Cd Victoria, Tamaulipas, México.

<sup>2</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km. 25. Carretera Villahermosa-Teapa. Teapa, Tabasco, México.

\*cezapata@uat.edu.mx

Palabras clave: Desparasitación selectiva, Antihelmíntico, Cabras

## Resumen

El objetivo fue evaluar el método FAMACHA®, condición corporal (CC), huevos por gramo de heces (HPG), como criterios de desparasitación selectiva (DSD) en un rancho caprino de Cd. Victoria, Tamaulipas. En el estudio se incluyó 90 animales en la fase de resistencia antihelmíntica y 28 animales en la fase de DSD. Se realizó el diagnóstico de RA como sugiere Coles *et al.* (1992), se probaron tres familias de antihelmíntico: levamisol (7.5 mg/kg/SC); Ivermectina (0.200 microgramos/kg/SC) y fenbendazol (7.5 mg/kg/VO). En la fase DSD, cada animal del rebaño fue examinado por un periodo de 7 meses. Se determinó a cada animal FAMACHA® (1-5), CC del 1 al 5 (1= flaca y 5= obesa) y el HPG de NGI del orden *Strongylida* mediante la técnica de McMaster. En el rebaño se utilizó el esquema DSD de Torres-Acosta *et al.* (2012). Se identificó el género de NGI mediante Corticelli Lai, de las muestras de los animales con cuentas  $\geq$  a 750 HPG de NGI. La granja caprina presentó resistencia a levamisol (porcentaje de reducción = 41 %) e ivermectina (0%), mientras que para fenbendazol se encontró del 99 %. Este fármaco se utilizó en la DSD de la evaluación el 40.8 % de los animales obtuvo calificación de FAMACHA® 3, seguido del grado 2 con 20.6 %. En CC, el 37.8 % obtuvo calificación de 2.5, el 22.5 % CC de 2.0 y el 16 % con CC de 1.5. Durante todo el periodo de estudio, solo se necesitó muestrear heces al 29.7 % de la población, mientras que solo el 10.5 % de la población necesitó desparasitación. El género *Haemonchus spp.* fue el más frecuente, seguido de *Trichostrongylus spp.* El rancho de estudio tiene cepas multi-resistentes de NGI (contra levamisol e ivermectina). El esquema de DSD combinando FAMACHA®, CC y cuenta de HPG permitió reducir el número de animales desparasitados en el rancho.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CISTICERCOSIS VISCERAL POR *Cysticercus tenuicollis* EN UN *Oryx dammah* EN CAUTIVERIO: REPORTE DE UN CASO. VISCERAL CYSTICERCOSIS BY *Cysticercus tenuicollis* IN AN *Oryx dammah* IN CAPTIVITY: CASE REPORT.

Coyac ZAV\*, Jerez FAE, Castillo OJS, Isaac SCA, Diaz RJA, Serrano PJ

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla  
(BUAP)  
valeriacoyac@gmail.com

Palabras clave: *Cysticercus tenuicollis*, *Taenia hydatigena*, *Oryx Dammah*

### Introducción

*Cysticercus tenuicollis* (*C. tenuicollis*) es la etapa larvaria de *Taenia hydatigena* (*T. hydatigena*), su distribución es mundial y afecta a rumiantes, teniendo mayor prevalencia en áreas rurales de países con gran población ovina. Los perros (incluyendo cánidos salvajes) son los huéspedes definitivos, ya que son portadores del parásito en su fase adulta, el cual se aloja a nivel de su intestino delgado.<sup>1,2,3</sup>

Durante la infección, los metacestodos tienden a localizarse en el omento, mesenterio y ocasionalmente la superficie del hígado; sin embargo, *C. tenuicollis* se han encontrado en zonas inusuales de como: pulmones, riñones, cerebro, ovarios, cuello uterino y vagina.<sup>1,2</sup>

El huésped intermediario se infecta por la ingestión de alimento contaminado con huevos de *T. hydatigena*, los cuales al llegar al tracto digestivo eclosionan, liberando las oncosferas que migrarán hacia el hígado a través del torrente sanguíneo; posteriormente atraviesa el parénquima hepático con dirección a la cavidad peritoneal. Las oncosferas maduran en un plazo de cinco a ocho semanas para luego adherirse en forma de quiste al mesenterio, la superficie serosa de los órganos abdominales y el omento.<sup>1,3,4</sup>

Los parásitos adultos no son altamente patógenos para el huésped definitivo, sin embargo, el huésped intermedio puede enfermar de gravedad cuando hay gran cantidad de cisticercos en desarrollo, ya que, durante el proceso de migración hepática, se producen lesiones hemorrágicas y fibróticas, las cuales son conocidas como "hepatitis cisticercosa" y que tiene una apariencia macroscópica similar a las lesiones por fasciolosis aguda.<sup>2,3,8</sup>

*C. tenuicollis* se ha documentado en oryx árabe, beisa oryx y gemsbok pero según la bibliografía consultada, no se ha documentado en oryx de orejas con franja. La prevalencia en oryx es baja (5,6%) en comparación con otros rumiantes domésticos (24,1% en Turquía, 79% en ovinos y 53% en cabras de Etiopía y 18,04% en cabras y 28.4% en ovinos de Irán). La prevalencia disminuye en los animales del zoológico debido a que la alimentación es diferente a la de los animales salvajes, ya que en las instalaciones donde habitan animales en cautiverio hay poca contaminación del alimento con heces de los huéspedes definitivos en comparación con el ganado en pastoreo o en animales de vida silvestre.<sup>3,4,5,8</sup>

La prevalencia de *C. tenuicollis* aumenta con la edad ya que los animales más viejos comparten el hábitat más tiempo el con el parásito, lo que aumenta el riesgo de consumo de huevos en pastos o piensos contaminados.<sup>4,5,9</sup>



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

El diagnóstico en animales se basa en los hallazgos de los quistes durante la necropsia o inspección de la carne en el rastro, aunque otros métodos como la prueba ELISA, pruebas bioquímicas y hematológicas pueden ser útiles para el diagnóstico en animales vivos.<sup>3,5,7</sup>

Este trabajo tiene como objetivo documentar el caso a través del análisis *post-mortem* de un ejemplar perteneciente a una colección privada.

Descripción del caso e historia clínica:

Un antílope oryx, macho, de 12 años de edad, perteneciente a una colección privada, sufre de parafimosis y balanopostitis grave sin presentar mejoría ante el tratamiento. Los propietarios deciden eutanasiarlo y el cadáver es remitido a patología donde se llevó a cabo la necropsia.

La dieta era a base de alfalfa achicalada y zacate. No se cuenta con registros de desparasitación, vacunas, tratamientos o padecimientos previos.

Hallazgos macroscópicos:

Inspección externa:

El cadáver estaba bien conservado y tenía una condición corporal regular 2/5 y el pelo ligeramente hirsuto.

El pene se encontraba desenvainado, aumentado de tamaño, la mucosa exhibía úlceras, eritema y proliferación de tejido con aspecto fibroso; asimismo el prepucio estaba engrosado y ulcerado.

Inspección interna:

Al visualizar los órganos *in situ* se encontraron 5 estructuras quísticas translúcidas de 5 a 7 cm de diámetro, las cuales contenían fluido acuoso y una escólex invaginado gris claro que en promedio media de 6mm de diámetro. Dichas estructuras estaban adheridas al abomaso, hígado y vesícula biliar (figuras 1 y 2).

La vesícula se hallaba plétora y el hígado presentaba pequeñas zonas hemorrágicas.

Los pulmones exhibieron discretas áreas de enfisema con distribución multifocal.

El resto de los órganos no presentaron cambios patológicos aparentes.

Hallazgos microscópicos.

Se realizaron cortes histológicos de los quistes presentes en cavidad abdominal, donde se apreció un escólex invaginado envuelto en una delgada membrana conformada por tejido conectivo fibroso. El escólex estaba constituido por tres capas las cuales eran: estroma de aspecto laxo donde se aprecian múltiples corpúsculos calcáreos, una capa de células tegumentales y tegumento ondulado el cual se encontraba parcialmente invaginado (figuras 3 y 4).

Se realizaron cortes histológicos de hígado, donde el parénquima hepático exhibió áreas de necrosis





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

de distribución multifocal, alrededor de las cuales había linfocitos, células plasmáticas e histiocitos; asimismo se aprecia proliferación de tejido conectivo fibroso e hiperplasia de conductos biliares.

Diagnósticos morfológicos:

Cavidad abdominal: Presencia de metacestodos consistentes con *Cysticercus tenuicollis* en omento, abomaso, hígado y vesícula biliar.

Hígado: Hepatitis linfoplasmocítica e histiocítica moderada multifocal con fibrosis y proliferación de conductos biliares moderado zonal.



Figura 1. Presencia de quistes parasitarios en cavidad abdominal (flechas blancas).

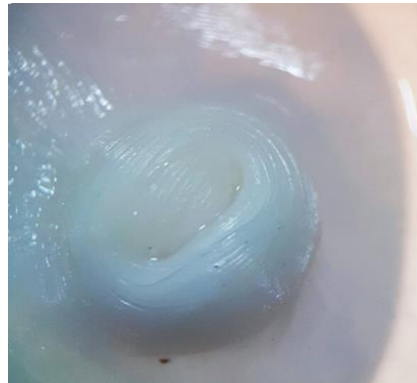


Figura 2. Escólex invaginado presente en el quiste.

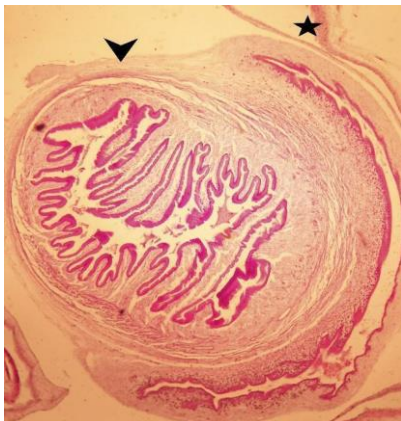


Figura 3. Fotomicrografía H&E 40x, Escólex invaginado (cabeza de flecha), la cual está rodeada de una membrana de tejido conectivo (estrella).

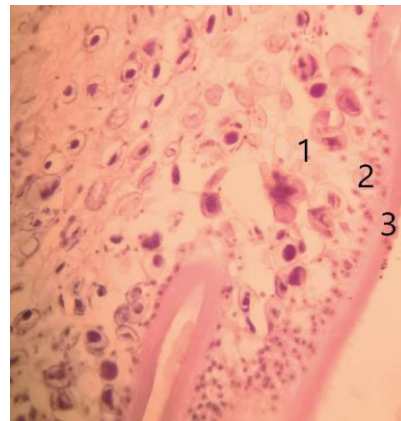


Figura 4. Fotomicrografía H&E 400x, Capas que conforman el escólex: 1 Parénquima laxo con presencia de corpúsculos calcáreos, 2 células tegumentarias, 3 tegumento.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Criterios diagnósticos:

Los criterios para el diagnóstico de *Cysticercus tenuicollis* son:

1. El estudio *post mortem* que permitió analizar la morfología y distribución de las estructuras parasitarias.
2. La especie afectada (*Oryx Dammah*).
3. El análisis microscópico de las lesiones en hígado y de los quistes parasitarios.

Diagnósticos diferenciales:

En este caso, los hallazgos a la necropsia y análisis de las estructuras parasitarias, aunadas a la especie afectada, nos dan un diagnóstico concluyente de infección por *C. tenuicollis*, lo que descarta otros diagnósticos diferenciales.

Discusión y conclusión

*C. tenuicollis* está distribuida mundialmente y tiene una prevalencia mucho más alta en rumiantes domésticos en comparación con rumiantes salvajes.<sup>1,3,4,5,8</sup>

La presentación de la enfermedad fue tal como la describe la bibliografía, afectó los mismos órganos y provocó las mismas lesiones, desafortunadamente no se pudieron realizar otras pruebas diagnósticas en el animal vivo, para tener más puntos de referencia, sin embargo, el hallazgo de los quistes durante la necropsia dio un diagnóstico definitivo.<sup>1,6</sup>

La prevalencia suele ser menor en animales en cautiverio ya que estos no salen a pastorear y el alimento que se les ofrece puede ser sujeto a medidas de control e inocuidad, lo que disminuye la posibilidad de que esté contaminado.<sup>1,4</sup> Por lo anterior nuestro caso evidencia la existencia de problemas de higiene e inocuidad en algún punto de la producción, distribución o almacenamiento del alimento, aunque también existe la posibilidad de que el foco de infección se encuentre dentro de las instalaciones donde se albergan a los animales, por lo que es de suma importancia que se refuercen las medidas de bioseguridad e implemente un plan de medicina preventiva.

Consideramos que la relevancia de este caso radica en que aporta información acerca de los problemas parasitarios que afectan a la fauna silvestre que vive en cautiverio, donde rara vez se reportan este tipo de enfermedades debido a que en la mayoría de los casos son subclínicos o presentan signología inespecífica, por dicha razón es importante realizar estudios de necropsia de forma rutinaria en toda la mortalidad, sin importar su diagnóstico clínico, lo que nos permitirá evaluar de manera más objetiva la salud de la colección animal.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Chege, S. Incidental findings of *Cysticercus tenuicollis* metacestodes in five oryx species. (2016).
- Payan-Carreira, F. Silva, M. Rodrigues, M. dos Anjos Pires *Cysticercus tenuicollis* vesicle in fetal structures: report of a case *Reprod Domest Anim*, 43 (2008), pp. 764-766
- M.H. Radfar, M.H. Zarandi, M. Bamorovat, R. Kheirandish, I. Sharifi Hematological, biochemical and pathological findings in goats naturally infected with *Cysticercus tenuicollis* *J Parasit Dis*, 38 (1) (2014), pp. 68-72
- O.B. Mohammed, A.N. Alagaili, S.A. Omer, M.F. Hussein Parasites of the Arabian oryx (*Oryx leucoryx*, Pallas, 1777) and their prevalence in the Kingdom of Saudi Arabia *Comp Parasitol*, 79 (2) (2012), pp. 288-292
- B.M. Arora, T.K. Varma, H.C. Tewari, C.K. Mandal Cystercosis caused by *Cysticercus tenuicollis* in a Beisa oryx *Vet Rec*, 114 (1984), p. 197
- E. Mekuria, S. Shimelis, J. Bekele, D. Sheferaw Sheep and goats *Cysticercus tenuicollis* prevalence and associated risk factors *Afr J Agric Res*, 8 (24) (2013), pp. 3121-3125
- OB Mohammed, AN Alagaili, SA Omer, MF Hussein Parásitos del orix árabe (*Oryx leucoryx*, Pallas, 1777) y su prevalencia en el Reino de Arabia Saudita *Comp Parasitol*, 79 (2) (2012), pp. 288 - 292
- BM Arora, TK Varma, HC Tewari, CK Mandal Cistercosis causada por *Cysticercus tenuicollis* en un orisa Beisa *Vet Rec*, 114 (1984), pág. 197
- LJ Fourie, S. Vrahimis, IG Horak, HJ Terblanche, OB Kok Ecto y endoparásitos de gemsbok introducidos en el estado libre de Oregon *S Afr J Wildl Res*, 21 (3) (1991), pp. 82 - 87



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PERSISTENCIA DEL EFECTO CONTROLADOR DE TRES FORMULACIONES DEL HONGO NEMATÓFAGO *Duddingtonia flagrans* EN OVINOS DE LANA.

### PERSISTENCE OF THE CONTROLLING EFFECT OF THREE FORMULATIONS OF THE NEMATOPHAGOUS FUNGUS *Duddingtonia flagrans* IN WOOL SHEEP.

Cubides CJA<sup>1\*</sup>, Cespedes GE<sup>2</sup>, Cortes RDF<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de investigación e innovación en salud y bienestar animal, AGROSAVIA, Centro de investigación Tibaitatá, Mosquera, Colombia.

<sup>2</sup>Departamento de Bioproductos, AGROSAVIA, Centro de investigación Tibaitatá, Mosquera, Colombia.

jcubides@agrosavia.com

Palabras clave. Nematodos gastrointestinales, *Duddingtonia flagrans*, control biológico

#### Resumen

El manejo de los nematodos gastrointestinales (NGI) en rumiantes se realiza exclusivamente con productos antihelmínticos químicos. Tendencias en el control biológico de los NGI en rumiantes han llevado a varios países a considerar hongos nematófagos (HN) como una estrategia prometedora el control sostenible. La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia) ha desarrollado algunas investigaciones en este campo, y como resultado la cepa colombiana (*Duddingtonia flagrans* cepa Agrosavia-BGMSABV-Df-Col-H-001-201) de HN ha sido seleccionada, evaluada y formulada. Con el fin de determinar la persistencia del efecto de tres prototipos (E3, E16 y CS) de formulación además de la cantidad y el período de eliminación de los prototipos, se realizó una prueba de campo durante 14 días con 15 ovinos (5 por grupo experimental). Durante los primeros siete días los hongos se administraron a dosis de 1 millón de clamidosporas por 1 kg/PV y durante los 14 días se recolectó el material fecal para evaluar su capacidad nematófaga *in vitro* y cuantificar la cantidad de clamidosporas contadas en la cámara de McMaster donde se consideró una clamidospora como 50 clamidosporas / g de heces (CPG). Los resultados mostraron que el porcentaje de recuperación de clamidosporas de los tres prototipos de formulación estando en un rango entre 2.3 al 11.4% y siendo los promedio de 6.8 (E3), 7.9 (E16) y 5.2 (CS). La capacidad nematófaga cuantitativa de los aislamientos postdigestión fue de 73% para E3, 68% para E16 y 41 % para CS. Se establece un período de persistencia de 4 semanas. Se recomienda continuar con experimentos *in vivo* para evaluar mejorar una formulación con el hongo *Duddingtonia flagrans*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SUCEPTIBILIDAD DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES A NITRONIXIL EN REBAÑOS OVINOS DE CUNDINAMARCA, COLOMBIA

## SUSCEPTIBILITY OF GASTROINTESTINAL NEMATODES TO NITROXINIL IN OVINE FARMS OF CUNDINAMARCA, COLOMBIA

Cubides CJA\*, Hernández OBA, Flórez SA

Grupo de investigación e innovación en salud y bienestar animal, AGROSAVIA, Centro de investigación Tibaitatá, Mosquera, Colombia.  
jcubides@agrosavia.com

Palabras clave. Resistencia antihelmíntica, nematodos gastrointestinales, nitroxinil

### Resumen

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) en ovinos, representan una de las mayores limitantes, puesto se traduce en una baja conversión alimenticia, pérdida del apetito y retraso en el crecimiento de los animales, derivándose en pérdidas económicas para los ovinocultores. El control de estos parásitos se ha basado exclusivamente en el uso de compuestos químicos por largo tiempo, práctica que se ha establecido sin criterios técnicos integrales, representando una gran problemática: la resistencia de los parásitos frente a los antihelmínticos. En Colombia AGROSAVIA desde el 2014 ha venido investigado esta problemática encontrándose resistencia múltiple en diferentes regiones del país. El objetivo de este estudio es identificar el estado de susceptibilidad o de resistencia antihelmíntica de cuatro familias de antihelmínticos: benzimidazoles, lactonas macrocíclicas, imidazotiazoles y análogos del hexaclorofeno en ovinos naturalmente infectados en 2 predios de Cundinamarca (Tibacuy y El Rosal). En este estudio se usó una prueba *in vivo* (RCH) que consistía en comparar los recuentos de huevos por gramo de heces (hpg) pre y postratamiento, donde para el conteo previo era necesario que de los animales tenga un recuento igual o superior a 200 hpg. Se conformaron cinco grupos experimentales n =9 animales/ grupo (Control no tratado, Ivermectina, Levamisol, Albendazol y Nitroxinil). A los 14 días postratamiento se hizo la evaluación de hpg para evaluar el porcentaje de reducción del hpg postratamiento. El cálculo de la resistencia se hizo empleando el programa RESO 4.0, y se declaró resistencia según los criterios de la WAAVP. Con base en los resultados se estableció resistencia múltiple a Ivermectina, Levamisol, Albendazol y susceptibilidad a Nitroxinil en ambos sistemas evaluados. A partir de coprocultivos y identificación morfológica se determinaron los principales generos relacionados con la resistencia encontrándose a *Haemonchus spp* y *Trichostrongylus spp*. Estos resultados permiten dar recomendaciones técnicas para el uso racional de este antihelmíntico y monitorear su eficacia en los sistemas ovinos y caprinos del país.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### EVIDENCIA DE DAÑO HEPÁTICO PRODUCIDO POR LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE CORDEROS CON *Taenia hydatigena*.

### EVIDENCE OF HEPATIC DAMAGE CAUSED BY EXPERIMENTAL INFECTION OF LAMBS WITH *Taenia hydatigena*.

Cuenca VC, Jimarez VG, Prado OMG, Iturbe RSL, Buendía JJA, Muñoz GMA, Alba HF\*

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. fealba@hotmail.com

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, resistencia, citocinas, Hormonas

#### Resumen

Los adultos de *Taenia hydatigena* se desarrollan en el intestino de perros y sus fases larvianas (metacestodos) se localizan en serosas de cavidad abdominal de rumiantes, equinos y cerdos. La presencia de estos metacestodos es considerada de poca relevancia y son escasos los trabajos recientes sobre parámetros parasitológicos o efectos patológicos de estos en los ovinos. El objetivo fue evaluar el porcentaje de establecimiento y el daño hepático en corderos infectados experimentalmente con *T. hydatigena*. Se inocularon 6 corderos Columbia con 250 huevos de *T. hydatigena*, semanalmente se midieron el número de eosinófilos sanguíneos (ES), niveles séricos de transaminasa glutámico-oxaloacética (TGO) y fosfatasa alcalina (FA). Los corderos fueron sacrificados a los 30 días pos-inoculación para contar el número de metacestodos en cavidad abdominal y buscar lesiones hepáticas. Los corderos mostraron un incremento sostenido de los niveles de ES y FA, que fueron significativos ( $p < 0.05$ ) a partir de la segunda semana pos-infección. La TGO no mostró aumento ( $p > 0.05$ ) durante el experimento. En todos los corderos se observaron metacestodos con distribución variable en omentos e hígado. El porcentaje de establecimiento promedio fue bajo (1.06%). Se observaron en todos los corderos lesiones hepáticas multifocales fibrosas de 2-7 mm. Estos resultados mostraron, que aún con un establecimiento muy bajo de metacestodos, se produjeron lesiones y alteraciones hepáticas sugestivas de daño metabólico. Futuros estudios permitirán conocer el impacto de estas alteraciones sobre los parámetros productivos de los ovinos.

Financiado por PAPIIT-UNAM IN-218018.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Theobroma cacao* CONTRA HUEVOS DE *Haemonchus contortus*

### ANTHELMINTIC ACTIVITY OF *Theobroma cacao* LEAF EXTRACTS AGAINST *Haemonchus contortus* EGGS

De la Cruz CA<sup>a</sup>, Castañeda RGS<sup>a\*</sup>, Canul VML<sup>a</sup>, Chan PJI<sup>a</sup>, Mancilla MMG<sup>b</sup>, Torres AJFJ<sup>a</sup>,  
Sandoval CCA<sup>a</sup> y Hoste H<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, CP 97100, Mérida, Yucatán, México. <sup>b</sup> CONACYT – Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, CP 97100, Mérida, Yucatán, México. <sup>c</sup> INRA, UMR 1225 IHAP, ENVT, 23 Chemin des Capelles, F-31076 Toulouse, France. tacosta@correo.uady.mx

Palabras clave: Antihelmíntico, *Theobroma cacao*, *Haemonchus contortus*

#### Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antihelmíntica (AAH) *in vitro* de extractos acetona: agua de hojas de *Theobroma cacao* contra huevos de *Haemonchus contortus*. Materiales y métodos: A partir de hojas secas y molidas de *T. cacao* (variedades: Azteca, Calabacillo y Ceylan) se obtuvieron extractos acetona: agua (70:30) libres de grasas y pigmentos. Los extractos fueron evaluados con la prueba de eclosión de huevos contra dos aislados de *H. contortus*, calculándose las correspondientes concentraciones eficaces al 50% y 90% (EC<sub>50</sub>/EC<sub>90</sub>) y los respectivos intervalos de confianza al 95% (IC95%). Se efectuaron tratamientos con y sin polifenoles por adición de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Los aislados de *H. contortus* utilizados fueron de origen templado (FESC) y tropical (Paraiso). Resultados: Para cada uno de los aislados, se obtuvieron valores de CE<sub>50</sub> similares entre las variedades de cacao Azteca, Calabacillo y Ceylan. Los valores respectivos fueron: 407.8 (IC95% 298.0-529.0), 382.9 (IC95% 267.8-514.3) y 400.4 (IC95% 264.2-537.1) µg/mL para FESC, y 684.8 (IC95% 235.6-948.4), 1115.5 (IC95% 610.5-1889.8) y 1005.9 (IC95% 709.7-1294.3) µg/mL para Paraiso. Las CE<sub>50</sub> de FESC fueron menores a las de Paraiso (P<0.05). Sin embargo, las CE<sub>90</sub> fueron semejantes entre los dos aislados. En todos los casos, el principal mecanismo observado fue el atrapamiento de larvas formadas dentro del huevo (>83%), con o sin la adición de PVPP. Sin embargo, el extracto de Ceylan mostró actividad ovicida (huevos morulados), con PVPP (37%) contra Paraiso, y sin PVPP (40%) contra FESC. Lo anterior sugiere que los compuestos responsables de dicha actividad son distintos cualitativa o cuantitativamente para cada variedad, y que las susceptibilidades a estos compuestos son diferentes para cada aislado.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD OVICIDA *in vitro* DE UN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Artemisia ludoviciana* SOBRE *Haemonchus contortus*

### *In vitro* OVICIDAL ACTIVITY OF A HIDROALCOHOLIC EXTRACT FROM *Artemisia ludoviciana* LEAVES AGAINST *Haemonchus contortus*

De Paz MN<sup>1</sup>, Olmedo JA<sup>2</sup>, Chavarría JL<sup>2\*</sup>, Mendoza deGP,<sup>2</sup> López AM<sup>2</sup>, García HC<sup>1</sup>, Rivero PN<sup>3</sup>,  
Jiménez PFS<sup>1</sup>, Rojo RR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitario UAEM-Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México, México.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, México.

<sup>3</sup>Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

dr\_rojo70@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, *Artemisia ludoviciana*, ovicida, antiparasitario.

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad ovicida de un extracto hidroalcohólico (E-HA) y dos de sus fracciones de *Artemisia ludoviciana* contra el nematodo parásito *Haemonchus contortus* bajo condiciones *in vitro*. Se elaboró un E-HA utilizando hojas deshidratadas de *A. ludoviciana*, al extracto HA se le realizó una separación química con acetato de etilo, obteniéndose dos fracciones, una acuosa (F-Aq) y una orgánica (F-AcOEt). Se utilizaron huevos del nematodo parásito *Haemonchus contortus* como modelo biológico. El E-HA y sus fracciones fueron confrontados con los huevos implementado el ensayo de inhibición de la eclosión de huevos (%IEH). El ensayo fue realizado en placas de micro-titulación de 96 pozos. Los tratamientos fueron el extracto HA, F-Aq a concentraciones de (50, 25, 12.5 y 6.25 mg/mL) y F-AcOEt a concentraciones de (5, 2.5, 1.2 y 0.6 mg/mL). Agua destilada y metanol (2%) fueron utilizados como controles negativos e ivermectina (0.5%) como control positivo. En cada pozo se depositó una cantidad de 100±15 huevos en una suspensión de 50 µL e inmediatamente se agregaron 50 µL de los tratamientos y controles acorde a cada tratamiento. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza con un diseño completamente al azar. Los resultados muestran una actividad ovicida cercana al 100% a partir de la concentración de 12.5 mg/mL con el E-HA y la fracción Aq. Cabe resaltar que la fracción AcOEt fue la más activa, exhibiendo un 100% de inhibición de la eclosión a 5 mg/mL de concentración. La actividad ovicida de *A. ludoviciana* podría representar una opción asequible y viable en el control de las parasitosis ocasionadas por nematodos gastrointestinales, por lo que se sugiere evaluar esta planta con otros estadios de *H. contortus*. Asimismo, estudios *in vivo* son necesarios para corroborar el efecto nematicida encontrado en el presente ensayo.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO DEL TRATAMIENTO PERINATAL CON BISFENOL A SOBRE LA RESPUESTA INMUNE Y LA SUSCEPTIBILIDAD A LA TOXOCARIASIS POR *Toxocara canis*

## EFFECT OF PERINATAL TREATMENT WITH BISPHENOL A ON THE IMMUNE RESPONSE AND SUSCEPTIBILITY TO TOXOCARIASIS BY *Toxocara canis*

Del Río AVH <sup>a\*</sup>, Palacios AMI <sup>b</sup>, Nava CKE <sup>b</sup>, Pérez SNY <sup>c</sup>, Ruíz MR <sup>c</sup>, Segovia MM <sup>c</sup>, Girón PMI <sup>d,e</sup>,  
Navidad MMS <sup>e</sup> y Morales MJ <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, CP 04510, Ciudad de México, México. <sup>b</sup> Departamento de Ciencias Ambientales, Laboratorio de Genotoxicología y Mutagénesis Ambientales, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, CP 04510, Ciudad de México, México. <sup>c</sup> Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, CP 04510, Ciudad de México, México. <sup>d</sup> Universidad Autónoma de Nayarit, Secretaría de Investigación y Posgrado, Laboratorio de Inmunotoxicología. Cd. de la Cultura s/n. Tepic Nayarit, México. <sup>e</sup> Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología, Unidad Especializada Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA-Unidad Nayarit). Calle tres s/n. Tepic, Nayarit, México.

Palabras clave: *Toxocara canis*, Bisfenol A, Respuesta inmunitaria

### Resumen

El Bisfenol A es un disruptor endocrino que tiene afinidad por los receptores de estrógenos y que puede atravesar la barrera placentaria y salir por medio de la leche materna. Como se ha observado en distintos estudios, las células del sistema inmunitario poseen receptores para distintas hormonas y este compuesto pueden estar ejerciendo sus efectos sobre las mismas. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la disrupción endócrina con BPA durante la etapa perinatal sobre la respuesta inmunológica durante la vida adulta, usando como reto antigénico la infección aguda por el parásito *Toxocara canis*. Ratas gestantes fueron expuestas al BPA durante el periodo perinatal. Posteriormente, a los 60 días de edad, las crías macho expuestas indirectamente al BPA se infectaron con huevos larvados del parásito y se sacrificaron a los 7 días post-infección. Se analizaron las cargas parasitarias en pulmón e hígado y se observó que la exposición al BPA genera un incremento en el número de larvas en estos órganos. Para evaluar la respuesta inmunitaria, se analizaron las subpoblaciones celulares presentes en bazo, ganglios linfáticos periféricos y mesentéricos. Se observó que no existen diferencias relevantes en cuanto al porcentaje de estas células. Sin embargo, en la expresión de citocinas, se encontró que existe una disminución en las citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) y un aumento en la expresión de citocinas Th1 (TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) en los animales infectados expuestos al BPA. Finalmente, los títulos de anticuerpos contra el parásito se encontraban disminuidos en los animales expuestos al BPA. En conclusión, la administración perinatal de BPA, afecta el desarrollo de la respuesta inmunológica durante la vida adulta, modificando la producción de citocinas y anticuerpos por parte de las células de la respuesta inmunitaria, lo cual ocasiona un aumento en la susceptibilidad a la infección por *T. canis*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *in vitro* DE UN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA PLANTA *Prosopis laevigata* CONTRA LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus*

### *In vitro* ANTHELMINTIC ACTIVITY OF AN HYDROALCOHOLIC EXTRACT FROM THE PLANT *Prosopis laevigata* AGAINST *Haemonchus contortus* INFECTIVE LARVAE

Delgado NEJ<sup>1,2</sup>, Mendoza de GP<sup>1\*</sup>, Salinas SDO<sup>2</sup>, Olmedo JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Boulevard Paseo Cuauhnahuac No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, México. CP 62556

<sup>2</sup> Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC-UAEM). Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. CP 62209. pedromdgives@yahoo.com

Palabras clave: *Haemonchus*, *Prosopis*, plantas bioactivas.

#### Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* de un extracto hidroalcohólico de la planta *Prosopis laevigata* contra larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. Materiales y métodos: a partir de hojas secas de la planta *P. laevigata* se obtuvo un extracto hidroalcohólico (E-HA) y por bipartición a partir del E-HA se obtuvieron dos fracciones: acuosa (F-Aq) y acetato de etilo (F-AcOEt). El extracto y fracciones se evaluaron *in vitro* contra larvas infectantes de *H. contortus* utilizando placas de microtitulación de 96 pozos. La fracción más bioactiva fue subfraccionada por cromatografía de columna abierta y también se evaluó. Las larvas se confrontaron con el extracto, las fracciones y las subfracciones a diferentes concentraciones (15-150 mg/mL). Se usaron como controles negativos: agua destilada y metanol al 4% y como control positivo se utilizó ivermectina a 0.5 mg/mL. Los datos fueron analizados utilizando un diseño completamente al azar y se llevó a cabo un análisis de varianza ANOVA, usando el modelo lineal general (GLM), mientras que las concentraciones letales fueron analizadas por el procedimiento PROC PROBIT. Resultados y Discusión: el extracto hidroalcohólico (E-HA) causó una mortalidad del 85.6% ( $\pm 5.68$ ) y del 62% ( $\pm 1.16$ ) a 150 y 125 mg/L, respectivamente. Los resultados más importantes se obtuvieron con la fracción orgánica de F-AcOEt que causó una mortalidad del 96% a una concentración de 50 mg/mL ( $\pm 0.75$ ). La subfracción C1F1 provocó una mortalidad cercana al 80% ( $\pm 6.69$ ) a una concentración de 15 mg/mL. Las concentraciones letales 50 y 90 (CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>) para E-HA, F-AcOEt y C1F1 fueron: 123 y 156.2 mg/mL, 12.88 y 34.97 mg/mL y 9.26 y 25.10 mg/mL, respectivamente ( $p > 0.05$ ). Los resultados del presente estudio revelan que las hojas de *P. laevigata* poseen compuestos bioactivos con una potente actividad antihelmíntica *in vitro* contra larvas infectantes de *H. contortus*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## VIABILIDAD Y PATOGENICIDAD DE METACERCARIAS DE *Fasciola hepatica* EN INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATONES BALB/C.

## VIABILITY AND PATHOGENICITY OF *Fasciola hepatica* METACERCARIAE IN BALB/C MICE EXPERIMENTAL INFECTION.

Durán AAA<sup>1\*</sup>, Cruz MI<sup>2</sup>, Muñoz SE<sup>3</sup>, Martínez O de MC<sup>4</sup>, Reyes MA<sup>5</sup>, Tapia PGG<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional arejandra.duran@gmail.com

<sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México

<sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional

<sup>4</sup>Universidad Nacional Autónoma de México

<sup>5</sup>Universidad Nacional Autónoma de México

<sup>6</sup>Universidad Nacional Autónoma de México.

Palabras clave: *Lymnaea humilis*, *Fasciola hepatica*, lesión.

### Resumen

Para determinar la viabilidad y lesiones producidas por metacercarias de *Fasciola hepatica* se utilizaron metacercarias obtenidas en el año 2017 y se produjeron metacercarias en el año 2018 a partir de caracoles *Lymnaea humilis*. Se utilizaron 40 ratones macho BALB/c, 6 semanas conformando grupos (A y B) ambos con 16 ratones, los cuales fueron infectados por vía oral: 4 ratones con 5 metacercarias, 4 ratones con 7 metacercarias, 4 ratones con 10 metacercarias y 4 ratones con 15 metacercarias del 2017 y 2018. Los sacrificios y necropsias se realizaron a partir del mes post infección. Se registraron lesiones macroscópicas en hígado. Posteriormente, diversos cortes se incluyeron en parafina, cortados en microtomo a 5µm para la tinción H&E para la posterior observación histopatológica. Los resultados mostraron que, únicamente analizando su morfología, la viabilidad de las metacercarias de 2017 fue del 80% y las de 2018 fue de 90%. Macroscópicamente en el grupo control no se observó ascitis, se registró consistencia firme-blanda, cambios de color aparentes y ausencia de hemorragias. El patrón lobulillar se observó aumentado levemente para la 6ta. semana de sacrificio. En los grupos A y B se encontró ascitis, hepatomegalia, hemorragias, petequias y cambios de coloración. Clasificándolos en índices de lesión, se realizó una correlación cuadrática, observando una relación directamente proporcional con una  $R^2 = 0.807$  para el grupo A y  $R^2 = 0.705$  para el grupo B. En los hallazgos microscópicos se presentó degeneración hidrópica para el grupo A; en el grupo B, un ratón con 10 metacercarias presentó necrosis moderada, un ratón con 15 metacercarias presentó degeneración hidrópica, lesiones sugerentes o compatibles con estadios juveniles de *Fasciola hepatica*. Estos datos sugieren que la viabilidad de las metacercarias se extiende más allá de un año de obtención siendo posible generar un ciclo de infección exitoso por *Fasciola hepatica*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS EN LAS GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES DE CONEJOS NUEVA ZELANDA INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON HUEVOS DE *Taenia pisiformis*

### HISTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE SUBMANDIBULAR GLANDS OF NEW ZEALAND RABBITS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Taenia pisiformis* EGGS

Flores PFI<sup>1</sup>, Domínguez RR<sup>1</sup>, Flores OAC<sup>1\*</sup>, Mendoza RCA<sup>2</sup>, Reyes LE<sup>1</sup>, Arias HD<sup>1</sup>, Perez MM<sup>3</sup>,  
Hallal CC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Facultad de química; <sup>3</sup>Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av Universidad 3000, 04510, Coyoacán, Cd. de México. \*e-mail: flores.ana\_14@hotmail.com

Palabras clave: Histomorfología, chinning, marcaje

#### Introducción

El conejo es un ser gregario, en la naturaleza vive en grupos en los cuales la dominancia es parte relevante de la organización social. La dominancia jerárquica frecuentemente es más notoria en machos que en hembras, y es un mecanismo que sirve para regular el acceso a recursos limitados. Como parte de la comunicación, los conejos en vida libre llevan a cabo la conducta de letrina que consiste en depositar heces en cierta zona en forma circular. Las zonas que no son marcadas con heces como las entradas a madrigueras, las raíces de árboles y el entorno de convivencia, son marcadas por medio del frotamiento del mentón del conejo sobre las superficies. Los conejos poseen unas glándulas submandibulares que vierten su secreción hacia el exterior, mediante una acción que se denomina "chinning" o frotamiento del mentón (González-Mariscal et al. 1992).

Histológicamente se ha documentado que, en conejos de distintas edades y diferente rango social, durante la época de apareamiento y de no apareamiento, las células secretorias tienen grados diferentes de secreción y se encuentran solamente en los animales maduros. Las glándulas submandibulares tienen estructuras mucosas, serosas, semicirculares, y el tejido en el parénquima intralobulillar se encuentra empaquetado (Mykityowycz 1965.) A nivel histológico, se sabe que en las glándulas submandibulares en hembras existe un mayor número de acines glandulares por campo visual microscópico en relación a los machos, y que el diámetro de los mismos es menor en la hembra con respecto al macho. Además, en hembras que se encuentran en estro hay un mayor número de acines, en tanto que en hembras gestantes la cantidad de estas estructuras disminuye, y la conducta de chinning disminuye o se abate.

Las conductas dependientes de testosterona, entre ellas la de chinning, están relacionadas con la dominancia. Los machos más dominantes tienen prioridad de acceso a copular con las hembras adquiriendo una ventaja que se traduce en permitir el desarrollo de su descendencia. Cuando las hembras son dominantes poseen mayor acceso al apareamiento con los machos, elección de mejores sitios para anidar y mayor acceso a alimento, por lo cual es más probable que sus productos sobrevivan. En resumen, los animales dominantes tendrán mayor éxito reproductivo y su descendencia mejores oportunidades de desarrollo, no solo en los conejos, sino en diversas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

especies como la mayoría de los animales carnívoros, ungulados y roedores. Sin embargo, existen otras evidencias experimentales en las que no se encuentra una correlación entre una alta jerarquía y un éxito reproductivo, particularmente en los primates. Las glándulas de chinning en los conejos presentan dimorfismo, son de mayor tamaño en machos y durante la época de apareamiento crecen de tamaño en ambos sexos. Por otra parte, la castración del conejo a edad temprana inhibe el desarrollo de las glándulas submandibulares.

Cuando los conejos son destinados a la producción pueden ser afectados por diversas enfermedades infecciosas como las bacterianas, virales, parasitarias, entre otras, siendo relevantes desde el punto de vista económico, debido a que disminuyen el potencial productivo de los animales domésticos (Aiello, 1998).

La cestodiosis más frecuente en el conejo es la causada por *Taenia pisiformis* (*T. pisiformis*), que ocurre con mayor frecuencia en unidades de producción pecuaria no tecnificadas. Debe destacarse que no se ha determinado la influencia que la infección con *T. pisiformis* puede tener sobre las glándulas submandibulares en conejos machos, por lo que en este estudio se aborda el análisis histológico y morfológico de las glándulas de conejos infectados.

### Objetivos

Determinar la influencia que la infección con *T. pisiformis* puede tener sobre la histología y morfología de las glándulas submandibulares en conejos machos.

### Materiales y métodos

#### Animales

El manejo y cuidado de los animales se llevaron a cabo con adherencia a la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, en estricto apego a las leyes aplicables a nivel institucional, nacional e internacional para el cuidado y uso de animales.

Catorce conejos machos Nueva Zelanda, de 4.5 meses de edad con un peso inicial de  $3.5 \pm 0.3$  kg, fueron mantenidos en jaulas individuales (60X90X40 cm) en condiciones de granja, con una temperatura ambiental anual promedio de  $21.1 \pm 3^\circ$  C. Fueron alimentados con alimento comercial y agua *ad libitum*, se dividieron en dos grupos uno infectado con 3,000 huevos de *T. pisiformis* y el otro permaneció sin infectar.

#### Infección

Se utilizaron proglótidos de *T. pisiformis* colectados de perros infectados, lavados, identificados y mantenidos de acuerdo al método descrito por Flatt y Moses (1975). Los proglótidos fueron macerados en solución salina al 5% y los huevos viables fueron cuantificados usando un hemocitómetro. Se administraron 3,000 huevos por conejo, por vía esofágica usando una sonda estéril de plástico.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Sacrificio humanitario

A los 56 días post infección se realizó el sacrificio humanitario de los conejos con una dosis letal de pentobarbital sódico (100mg/kg), con previa anestesia con xilacina/ketamina (35/5 mg/kg) (AVMA 2001).

### Carga parasitaria

Se obtuvieron los metacéstodos de *T. pisiformis* de las cavidades torácica y abdominal, y se registró el número de lesiones granulomatosas en el hígado y el número de metacéstodos; se consideraron como infectados a los animales que presentaron lesiones hepáticas granulomatosas o metacéstodos.

### Obtención de tejidos, procesamiento histológico y evaluación histológica convencional

Las glándulas submandibulares de cada conejo fueron extraídas y fijadas en paraformaldehído al 4 % durante 72 horas. Los segmentos de tejido fijados se procesaron conforme a la técnica de inclusión en parafina y se llevaron a cabo secciones histológicas seriadas de 6-8  $\mu\text{m}$  de grosor, se incluyeron en parafina y se tiñeron con H&E.

### Análisis morfométrico de núcleos

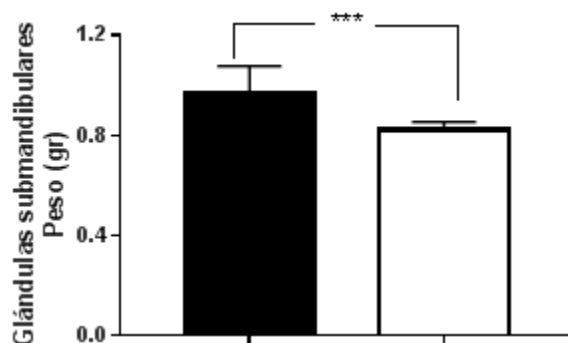
Mediante el uso de un microscopio acoplado a un analizador de imágenes que cuenta con programas de cómputo especializados para tal fin se midieron los núcleos en las células. Se utilizó el programa de cómputo Motic® Pro-Plus 6.0.

### Análisis estadístico

Se usó la prueba de análisis multifactorial de varianza y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se consideraron los valores significativos cuando el valor de *P* fue menor a 0.05.

### Resultados preliminares

El peso de las glándulas submandibulares en los conejos infectados fue 10% menor con respecto a los no infectados ( $0.95 \pm 0.03$  y  $0.82 \pm 0.00$ ) ( $P=0.0003$ ) (figura 1).

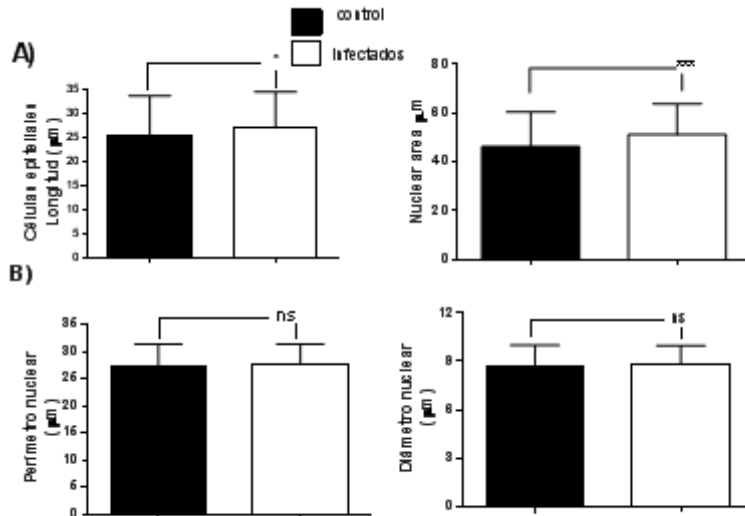


**Figura 1.** Peso de glándulas submandibulares de conejos infectados con 3,000 huevos de *Taenia pisiformis* (barra blanca) o sin infectar (barra negra).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

El largo del epitelio que recubre a los acines glandulares en el grupo infectado es de mayor tamaño en relación al grupo no infectado ( $25.44 \pm 0.60$  vs  $27.08 \pm 0.54 \mu\text{m}$ ) ( $P= 0.0444$ ), por otra parte, el área del núcleo también presentó un incremento ( $46.16 \pm 1.02$  vs  $51.09 \pm 0.92$ ) ( $P=***0.0004$ ) (figura 2A) Con respecto al perímetro del núcleo al comparar los grupos testigo e infectado, no se observaron cambios ( $27.22 \pm 0.30$  vs  $27.78 \pm 0.25$ ) ( $P=0.15$ ). De igual forma, al analizar el diámetro del núcleo de las células se obtuvo que la medida es similar para ambos grupos ( $8.66 \pm 0.09$  vs  $8.84 \pm 0.081$ ) ( $P=0.15$ ) (Figura 2B).



**Figura 2.** Histometría de epitelios localizados en los acines de glándulas submandibulares de conejos infectados con 3,000 huevos de *Taenia pisiformis* (barra blanca) o sin infectar (barra negra).

### Conclusiones

La infección con huevos de *T. pisiformis* provoca una reducción en el peso de las glándulas submandibulares de conejos machos, y cambios histométricos en los acines glandulares que las conforman.

### Implicaciones

Los resultados del presente estudio generan nuevo conocimiento básico en la biología, y además contribuirán para definir de una mejor manera los efectos que esta parasitosis tiene en la reproducción de la especie cunícola.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorista Abel Salvador Sánchez el apoyo en el procesamiento histológico. Domínguez-Roldan R (273755) y Arias HD (492304) agradecen la beca de CONACyT para llevar a cabo sus estudios de doctorado. Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto UAEM-UNAM (42467-2177-8-IX-15), otorgado a FIFP.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

Aiello S. The Merck veterinary manual. U.S.A. Merck & CO, 1998.

Mykutowycz, R. 1965. Further observations on the territorial function and histology of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* L. *Anim Behav.* 13:400–12.

González-Mariscal, G., Melo, A. I., Zavala, A., Beyer, C. 1992. Chin marking behavior in male and female New Zealand rabbits: onset, development and activation by steroids. *Physiol Behav.* 52:889–93.

Flatt, RE., Moses, RW. 1975. Lesions of experimental cisticercosis in domestic rabbits. *Lab Animal Sci* 25(2):162-167





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE *Petiveria alliacea* Y *Diospyros anisandra* SOBRE LA ECLOSIÓN Y DESARROLLO LARVAL DE *Ancylostoma* spp.

### ANTHELMINTHIC ACTIVITY FROM *Petiveria alliacea* AND *Diospyros anisandra* ON *Ancylostoma* spp LARVAL DEVELOPMENT AND EGG HATCHING.

Flota BGJ<sup>1\*</sup>, Rosado AJA<sup>1</sup>, Rodríguez VRI<sup>1</sup>, Borges ARL<sup>2</sup>, Gamboa AMM<sup>2</sup>, Martínez OMC<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Salud Animal y Salud Pública. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP 97100, Mérida, Yucatán, México. Contacto: ja.rosado@correo.uady.mx ; rvivas@correo.uady.mx

<sup>2</sup>Área de Biotecnología. Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. Calle 43 No. 130 Colonia Chuburná de Hidalgo CP 97200 Mérida, Yucatán, México.

<sup>3</sup>Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria CP04360, Coyoacán, Ciudad de México, México.

Palabras clave: actividad antihelmíntica, *Ancylostoma* spp, extractos de plantas.

#### Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antihelmíntica de *Petiveria alliacea* y *Diospyros anisandra* sobre la eclosión y desarrollo larval de *Ancylostoma* spp. Mediante la prueba de inhibición de la eclosión se evaluaron los extractos metanólicos de tallo y hoja de *P. alliacea* y corteza y hoja de *D. anisandra*, colectados en secas y lluvias a concentraciones de 600, 300, 150, 75 y 37.5 µg/ml. Se utilizó un análisis Probit para determinar las concentraciones letales al 50% (CL<sub>50</sub>) así como los intervalos de confianza al 95% (IC). En cuanto a la época de colecta, se obtuvieron porcentajes de inhibición de la eclosión (PIE) superiores con los extractos colectados en lluvias en comparación con secas y en relación con las estructuras de las plantas, los mayores PIE se obtuvieron con los extractos pertenecientes al tallo y corteza en comparación con las hojas. En *P. alliacea*, el más eficaz PIE (93.1%) se presentó con el extracto de tallo colectado en lluvias a 75 µg/ml. En el caso de *D. anisandra*, el más eficaz PIE (98.8%) se demostró con el extracto de corteza colectado en lluvias a la misma concentración. La CL<sub>50</sub> para el extracto del tallo de *P. alliacea* colectado en lluvias fue de 33.3 µg/ml, mientras que para el extracto de corteza de *D. anisandra* colectado en lluvias fue de 60.0 µg/ml. Se observó un alto efecto ovicida con ambas plantas: *P. alliacea* (98.8%) y *D. anisandra* (90%) a la concentración de 75 µg/ml. Los resultados demuestran que los extractos del tallo de *P. alliacea* y corteza de *D. anisandra*, colectados en lluvias, poseen alta actividad antihelmíntica *in vitro* sobre huevos de *Ancylostoma* spp., lo cual podría usarse como alternativa para el control de esta especie de nematodo.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE *Casearia corymbosa*, *Havardia albicans*, Y *Capraria biflora* CONTRA HUEVOS DE *Ancylostoma* spp.**

**EVALUATION OF THE ANTHELMINTHIC ACTIVITY FROM *Casearia corymbosa*, *Havardia albicans* AND *Capraria biflora* AGAINST EGGS OF *Ancylostoma* spp.**

Flota BGJ<sup>1</sup>, Rosado AJA<sup>1\*</sup>, Rodríguez VRI<sup>1</sup>, Borges ARL<sup>2</sup>, Gamboa AMM<sup>2</sup>, Martínez OMC<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Salud Animal y Salud Pública. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP 97100, Mérida, Yucatán, México. Contacto: ja.rosado@correo.uady.mx ; rvivas@correo.uady.mx

<sup>2</sup> Área de Biotecnología. Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. Calle 43 No. 130 Colonia Chuburná de Hidalgo CP 97200 Mérida, Yucatán, México.

<sup>3</sup> Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria CP 04360, Coyoacán, Ciudad de México, México.

Palabras clave: alternativas de control, nematodos, extractos de plantas.

## Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antihelmíntica de *Casearia corymbosa*, *Havardia albicans* y *Capraria biflora* sobre huevos de *Ancylostoma* spp. Se evaluaron los extractos metanólicos de la corteza de *C. corymbosa*, hoja de *H. albicans* y la parte aérea de *C. biflora*, colectados en época de lluvias y secas. Se utilizó la prueba de inhibición de la eclosión para determinar el porcentaje de inhibición de la eclosión (PIE) a las concentraciones de 3600, 2400, 1200, 600 y 300 µg/ml. Para determinar las concentraciones letales al 50% (CL<sub>50</sub>) y sus intervalos de confianza al 95% se empleó un análisis Probit. De manera general, los más eficaces PIE se obtuvieron con los extractos colectados en la época de lluvias en comparación con la época de secas. Los PIE más eficaces de la corteza de *C. corymbosa* fueron 55.1% (lluvias) y 45.0% (secas) a 3600 µg/ml, de la hoja de *H. albicans* fueron 96.5% a 1200 µg/ml (lluvias) y 97.3% a 3600 µg/ml (secas) y para la parte aérea de *C. biflora* fueron 97.5% a 1200 µg/ml (lluvias) y 98.7% a 2400 µg/ml (secas). Las menores CL<sub>50</sub> se obtuvieron con los extractos colectados en época de lluvias: 12,670 µg/ml para *C. corymbosa*, 593.4 µg/ml para *H. albicans* y 849.9 µg/ml para *C. biflora*. Con el extracto de *C. corymbosa* se observó el efecto denominado "larvas L<sub>1</sub> que fallan la eclosión" (54.3% a 3600 µg/ml), mientras que con los extractos de *H. albicans* y *C. biflora* se observó efecto ovicida (88.0% y 75.7% a 3600 µg/ml, respectivamente). Estos resultados demuestran que los extractos de *H. albicans* y *C. biflora* colectados en época de lluvias poseen alta actividad antihelmíntica contra huevos de *Ancylostoma* spp., esto podría representar una futura alternativa para el control de este nematodo.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *in vitro* DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Theobroma cacao* CONTRA LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus*.

### *In vitro* ANTHELMINTIC ACTIVITY OF *Theobroma cacao* LEAVES EXTRACTS AGAINST *Haemonchus contortus* INFECTIVE LARVAE.

Gaudin E<sup>b</sup>, Castañeda RGS<sup>a\*</sup>, Chan PJI<sup>a</sup>, Torres AJFJ<sup>a</sup>, Sandoval CCA<sup>a</sup>, Hoste H<sup>b</sup> y De la Cruz CA<sup>a</sup>, Mancilla MMG<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, CP 97100, Mérida, Yucatán, México

<sup>b</sup> INRA, UMR 1225 IHAP, ENVT, 23 Chemin des Capelles, F-31076 Toulouse, France. tacosta@correo.uady.mx

Palabras clave: Antihelmíntico, *Theobroma cacao*, *Haemonchus contortus*

#### Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antihelmíntica (AH) *in vitro* de extractos acetona: agua de hojas de *Theobroma cacao* contra larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de *Haemonchus contortus*. Materiales y métodos: A partir de hojas secas y molidas de *T. cacao* (variedades: Azteca, Calabacillo y Ceylan) se obtuvieron extractos acetona: agua (70:30) libres de grasas y pigmentos. Los extractos fueron evaluados con la prueba de inhibición de desenvaine larval contra dos aislados de *H. contortus* de FESC (templado) y Paraíso (tropical). Tras la exposición a una solución de cloro que provocara el desenvaine gradual, se registraron larvas con y sin vaina en los minutos 0, 20, 40 y 60. Con los datos de este último minuto se calcularon las correspondientes concentraciones eficaces al 50% (EC<sub>50</sub>) y los respectivos intervalos de confianza al 95% (IC95%). Se efectuaron incubaciones con y sin polifenoles por adición de polivinilpolipirrolidona (PVPP).

Resultados y discusión: Para cada uno de los aislados se obtuvieron valores de CE<sub>50</sub> similares entre las variedades de cacao Azteca, Calabacillo y Ceylan. Los valores respectivos fueron: 207.5 (IC95% 174.2-240.1), 192.9 (IC95% 160.7-222.8) y 250.2 (IC95% 222.8-278.5) µg/mL para FESC, y 333.7 (IC95% 290.6-379.2), 322.6 (IC95% 281.1-368.4) y 264.2 (IC95% 208.4-317.6) µg/mL para Paraíso. Todos los extractos inhibieron 100% el desenvaine a una concentración de 1200 µg/mL. Sin embargo, al adicionar PVPP a cada extracto en esa concentración, la actividad AH fue eliminada parcialmente. Los polifenoles de las hojas de Azteca y Calabacillo están más involucrados con el efecto sobre el desenvaine con el aislado Paraíso (P<0.05). Para el aislado FESC los polifenoles no fueron los únicos involucrados en la actividad AH. No existe una tendencia clara entre la variedad de cacao y la actividad AH medida como desenvaine, con o sin PVPP. Sin embargo, se observó menor susceptibilidad de los *H. contortus* de Paraíso comparados con FESC.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## RESPUESTA INMUNE DE OVINOS A LA INFECCIÓN CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES

### IMMUNE RESPONSE IN HAIR SHEEP TO GASTROINTESTINAL NEMATODE INFECTION

González GR\*, López AME, y Torres HG

<sup>a</sup>Universidad Autónoma Chapingo. URUSSE, km 7.5 Carr. Teapa-Vicente Guerrero. Teapa, Tabasco, México. E-mail; robgardu@hotmail.com; Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, CENID-PAVET. Carr. Fed. Cuernavaca-Cuautla, 8534. Jiutepec, Morelos, México. C.P. 62550. Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Estado de México, México;

#### Introducción

Uno de los principales problemas que limitan la producción ovina en el mundo es el parasitismo gastrointestinal (Roeber et al. 2013), de éstos, los nematodos gastrointestinales (NGI) afectan a los animales en pastoreo, lo que causa un bajo rendimiento productivo. Debido a la aparición y desarrollo de resistencia antihelmíntica (AR) en muchos tipos de los antihelmínticos (González-Garduño et al. 2014) se ha puesto atención a otras alternativas como son la selección de animales con resistencia natural. Esta forma de control considera como uno de los principales componentes el desarrollo inmunológico a través de la infección natural o experimental con NGI. Esta alternativa es importante porque a través de mecanismos de inmunidad, los animales pueden sobrellevar la infección de los NGI, especialmente en razas de pelo, que presentan un grado de resistencia y de resiliencia que les permite ser productivas en ambientes propicios para el desarrollo de parasitosis como lo es el trópico húmedo (Aguilar-Caballero et al., 2008). Por ello el objetivo del presente trabajo fue determinar la respuesta inmune que origina la infección natural o experimental con larvas de nematodos gastrointestinales.

#### Materiales y métodos

El estudio se realizó en Salto de Agua Chiapas, México. El sitio está ubicado a 17 ° 34 'N de latitud y 92 ° 29' W de longitud. El clima de la región es cálido húmedo con lluvias todo el año. La temperatura promedio anual es de 26.5 ° C y la precipitación de 3,346.1 mm (CONAGUA 2018).

Estudio 1. Se utilizaron dieciocho corderos Blackbelly de cuatro meses de edad con 13.9 ± 3.2 kg de peso corporal, infectados naturalmente en pastoreo en potreros de pasto humidícola (*Brachiaria decumbens*). Los corderos se distribuyeron para su análisis en dos grupos a) corderos estabulados (n=12) y el grupo II que se introdujo nuevamente a pastoreo (n=6). Ningún cordero recibió tratamiento antihelmíntico.

Estudio 2. Se utilizaron 30 corderos Pelibuey de cinco meses de edad, con un peso vivo inicial promedio de 17 ± 5 kg. Una semana antes del inicio del experimento los corderos fueron desparasitados con Oxfendazol a razón de 4.5 mg kg<sup>-1</sup> PV para asegurar que se encontraban libres de nematodos gastrointestinales. Se formaron dos grupos uno constituido por 24 animales que se estabularon y alimentaron con una dieta integral de caña de azúcar y sorgo molido y otro grupo de 6



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

corderos permaneció en pastoreo. El grupo estabulado se infectó de manera semanal durante seis semanas a dosis de 200 larvas *Haemonchus contortus* por kg PV<sup>-1</sup> obtenidas dos semanas antes de la infección.

### *Muestras parasitológicas y hematológicas*

En ambos estudios se tomaron muestras fecales directamente del recto de los cordero y se procesaron utilizando la técnica de McMaster (Thienpont et al. 1986), con una sensibilidad de 50 EPG (Cringoli et al. 2004). También se tomaron dos muestras de sangre de la vena yugular; uno se recogió en tubos vacutainer con EDTA para determinar el volumen celular aglomerado (VCA) por medio del microhematocrito, proteína plasmática (PP), el conteo de eosinófilos circulantes (células/10<sup>3</sup> µL) utilizando solución de Carpentier. El otro tubo tenía acelerador de coagulación para recuperar el suero.

### Determinación de IgA

El nivel de IgA se determinó utilizando un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) con extracto crudo de *Haemonchus contortus*. La metodología para obtener la actividad de IgA se describe ampliamente en González-Garduño et al. (2017). La densidad óptica (OD) de cada suero se obtuvo restando de cada pocillo los valores de los pocillos sin suero, lo que representó la unión no específica del conjugado (Andronicos et al. 2010) y la actividad de la IgA se expresó como un porcentaje a un suero estándar positivo (RPS) de acuerdo con la fórmula indicada por Cardoso et al. (2013).

### *Análisis estadístico*

Los datos se analizaron utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2004) para un modelo de medidas repetidas en el tiempo. El número de EPG expulsado se transformó en logaritmo [Log (EPG +1)] para homogeneizar la varianza y aproximar el modelo a una distribución normal, donde se analizó el tratamiento (estabulación y pastoreo) y el tiempo.

### Resultados

En el estudio 1 los corderos estabulados sin reinfección mostraron similar conteo de huevos de nematodos que los ovinos en pastoreo (523 vs 503). Sin embargo, los valores de PP y los EOS fueron menores en estabulación (6.4 g/dL y 604) que en pastoreo (6.9 g/dL y 908 respectivamente). Por otra parte el hematocrito fue superior en los ovinos estabulados. En el estudio 2 y a diferencia del primero, los ovinos con reinfección continua tuvieron similares conteos fecales que los animales en pastoreo, lo mismo que los valores de PP, EOS y hematocrito (Cuadro 1).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 1. Variables respuesta de ovinos infectados con nematodos gastrointestinales

Variables	Estudio 1				Estudio 2			
	Infección- Estabulación		Pastoreo		Reinfección Estabulación		Pastoreo	
			DE	P			DE	P
HPG	523	503	675	>0.05	1187	1621	1879	>0.05
hematocrito	27.8	26.4	3.9	<0.01	25.2	25.4	4.5	>0.05
PP	6.4	6.9	0.6	<0.01	5.8	5.8	0.6	>0.05
EOS	647	908	723	<0.05	507	400	415	>0.05
IgA					9.2	13.0	10	<0.05

HPG. Huevos por gramo de heces. VCA. Volumen celular aglomerado. PP. Proteína plasmática. EOS. Número de eosinófilos. DE: Desviación Estándar.

Los animales estabulados infectados previamente (Experimento 1) mostraron niveles menores de PP que los ovinos en pastoreo. Mientras que los valores de eosinófilos en los animales en pastoreo fueron superiores al de los corderos estabulados. En el estudio 2 los CFH fueron muy similares en los animales infectados en pastoreo y los re infectados en estabulación. Similar comportamiento ocurrió con el número de eosinófilos del día 42 al 56, aunque hubo un ligero incremento al final del estudio después de que los animales se dejaron de re infectar. Las especies de nematodos encontradas fueron las mismas que predominan en el estado de Tabasco (Cutiño et al. 2015) *H. contortus*, *T. colubriformis* y *C. curticei*.

## Discusión

En ambos estudios los conteos fecales de huevos fueron similares entre los corderos estabulados y los de pastoreo. Sin embargo, la menor respuesta en el número de eosinófilos y en el contenido de proteína plasmática en los ovinos en estabulación del estudio 1, muestra que la carencia de estímulo con larvas de nematodos provoca una menor reducción de los parámetros inmunes, ya que en el estudio número dos con reinfección continua los valores de eosinófilos y de proteína plasmática fueron similares en ambos grupos de corderos.

Los valores altos de hematocrito en estabulación se asociaron al sistema de alimentación, por lo que el menor hematocrito fue muy evidente en los animales de pastoreo debido a la reinfección continua y la presencia del principal nematodo involucrado que fue *H. contortus*. La reducción en el hematocrito se ha indicado en corderos infectados con NGI con valores cercanos al 21% de reducción, comenzando con  $29.8 \pm 2.7\%$  y terminando con  $23.5 \pm 5.8\%$ , después de 60 días de pastoreo (Cutiño et al. 2015).

Los animales de pastoreo tenían más PP que los corderos en estabulación. El estímulo de las larvas durante la reinfección en pastoreo probablemente promovió que los corderos generaran niveles más altos de PP e IgA como una respuesta inmune adquirida, como se demostró al comparar los valores de IgA de los corderos en pastoreo y estabulación.

Los corderos en estabulación tuvieron una respuesta muy baja en los valores de IgA. Este bajo nivel de IgA se debió posiblemente al hecho de que los animales, a pesar de estar infectados, no tenían suficiente estimulación inmunológica para mantener altos niveles de IgA, PP y eosinófilos. Por lo



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

tanto, se supone que el comportamiento de la IgA se debe al hecho de que los corderos requieren un cierto nivel de infección para mantener niveles constantes de inmunidad (McRae et al. 2015).

Conclusiones.

Se concluye que la respuesta inmune tanto humoral como celular depende de la continua reinfección de los animales.

Referencias bibliográficas

- Aguilar-Caballero AJ, Torres-Acosta JFJ, Cámara Sarmiento R, Hoste H, Sandoval-Castro CA. 2008. Inmunidad contra los nematodos gastrointestinales: la historia caprina. *Trop Subtrop Agroecosystems*. 9(1):73-82.
- Andronicos N, Hunt P, Windon R. 2010. Expression of genes in gastrointestinal and lymphatic tissues during parasite infection in sheep genetically resistant or susceptible to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. *Int J Parasitol*. 40(4):417-429.
- Cardoso CP, Silva BF, Trinca LA, Amarante AF. 2013. Resistance against gastrointestinal nematodes in Crioulo Lageano and crossbred Angus cattle in southern Brazil. *Vet Parasitol*. 192:183-191.
- CONAGUA, 2018. Available in: [http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=174:chiapas&catid=14:normales-por-estacion](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=174:chiapas&catid=14:normales-por-estacion) [Consulted: February 9, 2018]
- Cringoli G, Rinaldi L, Veneziano V, Capelli G, Scala A. 2004. The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet Parasitol*. 123:121-131.
- Cutiño-O JM, Arjona-J G, Zaragoza-V CV, García-H RA, Aguilar-C AJ, Medina-R JU, Berumen-A AC, Chay-C AJ, González-G R. 2015. Respuesta hematológica en ovinos rastreadores durante su primera infección con nematodos gastrointestinales. *X Seminario Internacional de Producción de Ovinos en el trópico*. 183:187
- González-Garduño R, López-Arellano ME, Conde-Felipe MM, Mendoza-de Gives P, Aguilar-Marcelino L, Jaso-Díaz G. 2017. Immune and haematological parameters of Blackbelly ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 30(3):219-230.
- González-Garduño R, López-Arellano ME, Ojeda-Robertos N, Liébano-Hernández E, Mendoza-de Gives P. 2014. Diagnóstico in vitro y en campo de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. *Arch Med Vet*. 46(3):399-405.
- Roeber F, Jex AR, Gasser RB. 2013. Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance-an Australian perspective. *Parasites & vectors*. 6(1):153.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT® User's Guide, Version 9.2, Cary, NC: SAS Institute Inc. 2004.
- Strain JAS, Stear JM. 2001. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunol*. 23:527-531.
- Thienpont D, Rochette F, Vanparijs OFJ. 1986. Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico. 2n edition. Janssen Research Foundation. Beerse, Bélgica.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

PRESENCIA DE *Lernaea cyprinacea* EN AXOLOTE SERRANO (*Ambystoma velasci*) EN EL MUNICIPIO DE ATLANGATEPEC EN TLAXCALA, MÉXICO.

REPORT OF DE *Lernaea cyprinacea* IN AXOLOTL SERRANO (*Ambystoma velasci*) OF ATLANGATEPEC IN TLAXCALA, MÉXICO.

Guerrero MC<sup>1</sup>., García HÁ<sup>2</sup>, Cobo GJM<sup>2</sup>, B RL<sup>2</sup>, Hernández AI<sup>2</sup>, Vieyra GN<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología

<sup>2</sup>Departamento de Medicina y Zootecnia de Abejas, Conejos y Organismos Acuáticos.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Contacto: gro@unam.mx, mcgromo@hotmail.com

Palabras clave: *Lernaea*, axolote, Tlaxcala.

## Resumen

*Lernaea cyprinacea* es un crustáceo copépodo de distribución mundial común en peces de agua dulce, se ha reportado en Brasil, Colombia, Estado Unidos y Euro-asiático de donde es originario. En México existen reportes de este parásito en lagos y criaderos de peces. En México existen 7 especies endémicas de ajolotes, pero solo en *Ambystoma mexicanum* se ha comunicado la presencia de *Lernaea cyprinacea*. El objetivo de este trabajo fue reportar la presencia de *Lernaea cyprinacea* en el axolote serrano (*Ambystoma velasci*). En el Centro Acuícola Atlangatepec, en el Municipio de Atlangatepec en el estado de Tlaxcala, se producen en estanques la carpa de Israel (*Cyprinus carpio*) y en 4 peceras de vidrio ocho ajolotes de la especie *Ambystoma velasci* para su reproducción. Se tomaron muestras con la ayuda de unas pinzas a todos los ajolotes que se encontraban en las peceras individuales por pareja de ambos sexos, los parásitos se colocaron en tubos de plástico en alcohol al 70%. En el laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UNAM, se identificó por sus características morfológicas a 22 especímenes de *Lernaea cyprinacea*. La frecuencia en la localización fue de 40.90% (9/22) en las branquias, 18.18% (4/22) en la base del cuello, 13.63% (3/22) en la unión del cuerpo con el miembro torácico, 9.09% (2/22) en los ojos, 4.54% (1/22) en el hombro derecho y 4.54% (1/22) en la base de las glándulas cloacales. Por otra parte, se observó en los sitios de localización del parásito nódulos fibrosos principalmente en las branquias y la piel. Los ajolotes salieron a una exposición y sus peceras se llenaron con agua proveniente de estanques donde se producen las carpas. Se sugiere no utilizar agua de estanques donde se críen carpas ya que puede ser fuente de contaminación de *Lernaea cyprinacea*.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS EN LAS GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES DE CONEJOS NUEVA ZELANDA OBESOS INFECTADOS CON HUEVOS DE *Taenia pisiformis*. HISTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE SUBMANDIBULAR GLANDS OF OBESE NEW ZEALAND RABBITS INFECTED WITH *Taenia pisiformis* EGGS

Hallal CC<sup>1</sup>, Domínguez RR<sup>1</sup>, Reyes LE<sup>1\*</sup>, Mendoza RCA<sup>2</sup>, Flores OAC<sup>1</sup>, Arias HD<sup>1</sup>, Pérez MM<sup>3</sup>,  
Flores PFI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Facultad de química; <sup>3</sup>Facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av Universidad 3000, 04510, Coyoacán, Cd. de México. \*e-mail: flores.ana\_14@hotmail.com

Palabras clave: Histomorfología, obesidad, infección

### Introducción

El parasitismo causado por céstodos durante la obesidad ha sido poco estudiado. La parasitosis por *Taenia pisiformis* (T. pisiformis) es muy frecuente en conejos, causando importantes pérdidas económicas en condiciones de granja. Los parásitos afectan el metabolismo de sus hospederos, específicamente el metabolismo energético, una condición que se ha visto con interés porque incide en cambios que pueden afectar la producción animal, pero, además, se ha planteado como una estrategia potencial de tratamiento y prevención contra la diabetes tipo 2 y la obesidad (Yang et al., 2013). Los conejos no escapan de los trastornos metabólicos, ya que son animales de larga vida, útiles en la cría, investigación y como animales de compañía. La interacción entre la parasitosis y la obesidad, a pesar de ser una comorbilidad muy frecuente, ha sido muy escasamente estudiada.

El conejo en la naturaleza vive en grupos, en los cuales la dominancia es parte relevante de la organización social. La dominancia jerárquica frecuentemente es más notoria en machos que en hembras, y es un mecanismo que sirve para regular el acceso a recursos limitados. En conejos, los sucesos hormonales ocurridos durante las distintas etapas fisiológicas influyen en la estructura y la fisiología de los órganos reproductivos, además en las interacciones sociales de esta especie y sobre diferentes conductas. El chinning es una conducta en la que los animales frotan sus barbillas contra objetos y congéneres, depositando así sustancias odoríferas producidas por la glándula submandibular y es llevada a cabo por machos y hembras. Los machos la realizan con mayor frecuencia y tienen glándulas submandibulares de mayor tamaño. La frecuencia de chinning y el tamaño de la glándula se han correlacionado con el rango social, y se ha observado que las glándulas son más grandes y más activas durante la reproducción (González-Mariscal et al. 1993).

Histológicamente las glándulas submandibulares tienen estructuras mucosas, serosas, semicirculares, con el tejido paenquimatoso intralobulillar empaquetado. Se ha documentado que, en conejos de distintas edades y diferente rango social, durante la época de apareamiento y de no apareamiento, las células secretorias tienen grados diferentes de secreción y se encuentran solamente en los animales maduros. En las glándulas submandibulares de las hembras existe un mayor número de acines glandulares por campo visual microscópico en relación a los machos, y el diámetro de los mismos es menor en la hembra con respecto al macho. Además, en hembras que



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

se encuentran en esto hay un mayor número de acines, en tanto que en hembras gestantes la cantidad de estas estructuras disminuye, y la conducta de chinning disminuye o se abate.

Dentro de los parásitos que afectan a los conejos están las coccidias, ácaros y helmintos, de los cuales, *T. pisiformis* es el céstodo más común (Yang et al., 2012). Este trabajo está enfocado en determinar la influencia que puede tener la infección con *T. pisiformis* sobre las glándulas submandibulares en conejos machos obesos, abordando el análisis histológico y morfológico de las glándulas de conejos obesos infectados.

### Objetivo

Analizar la influencia que la infección con *T. pisiformis* puede tener sobre la histología y morfología de las glándulas submandibulares en conejos machos obesos.

### Materiales y métodos

#### Animales

Catorce conejos machos Nueva Zelanda alimentados durante 56 días con alimento comercial añadido con 5% de aceite de soya y 5% de manteca de cerdo (Antic et al., 1999) y agua ad libitum, se dividieron en dos grupos, uno se infectó con huevos de *T. pisiformis* y el otro permaneció sin infectar.

Los conejos se mantuvieron en jaulas individuales (60X90X40 cm) en condiciones de granja, con una temperatura ambiental anual promedio de  $21.1 \pm 3^\circ$  C. Su manejo y cuidado se llevaron a cabo con adherencia a la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, que se encuentra en estricto apego a las leyes aplicables a nivel institucional, nacional e internacional para el cuidado y uso de animales.

#### Infección

Se utilizaron proglótidos de *T. pisiformis* colectados de perros infectados, lavados, identificados y mantenidos de acuerdo al método descrito por Flatt y Moses (1975). Los proglótidos fueron macerados en solución salina al 5% y los huevos viables fueron cuantificados usando un hemocitómetro. Se administraron 3,000 huevos por conejo, por vía esofágica usando una sonda estéril de plástico.

#### Sacrificio humanitario

A los 56 días post infección se realizó el sacrificio humanitario de los conejos con una dosis letal de pentobarbital sódico (100mg/kg), con previa anestesia con xilacina/ketamina (35/5 mg/kg) (AVMA 2001).

#### Carga parasitaria

Se obtuvieron los metacéstodos de *T. pisiformis* de las cavidades torácica y abdominal, y se registró el número de lesiones granulomatosas en el hígado y el número de metacéstodos; se consideraron



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

como infectados a los animales que presentaron lesiones hepáticas granulomatosas o metacéstodos.

Obtención de tejidos, procesamiento histológico y evaluación histológica convencional

Las glándulas submandibulares de cada conejo fueron extraídas y fijadas en paraformaldehído al 4 % durante 72 horas. Los segmentos de tejido fijados se procesaron conforme a la técnica de inclusión en parafina y se llevaron a cabo secciones histológicas seriadas de 6-8  $\mu\text{m}$  de grosor, se incluyeron en parafina y se tiñeron con H&E.

Análisis morfométrico de núcleos

Mediante el uso de un microscopio acoplado a un analizador de imágenes que cuenta con programas de cómputo especializados para tal fin se midieron los núcleos en las células. Se utilizó el programa de cómputo Motic® Pro-Plus 6.0.

Análisis estadístico

Se usó la prueba de análisis multifactorial de varianza y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se consideraron los valores significativos cuando el valor de  $P$  fue menor a 0.05.

Resultados preliminares

Después de la infección, el perímetro del núcleo de las células acinares disminuyó un 15% en los conejos obesos ( $233.6 \pm 4.5$  vs  $197.9 \pm 4.3$ ) ( $P=0.0001$ ).

Al analizar el diámetro del núcleo, se observó una disminución del 30% inducida por la infección en los conejos obesos ( $4040 \pm 333$  vs  $2810 \pm 139$ ) ( $P=0.003$ ) (figura 1).

Conclusiones

La infección con huevos de *T. pisiformis* induce una reducción en el tamaño nuclear de las células de los acines de las glándulas submandibulares en conejos obesos.

Implicaciones

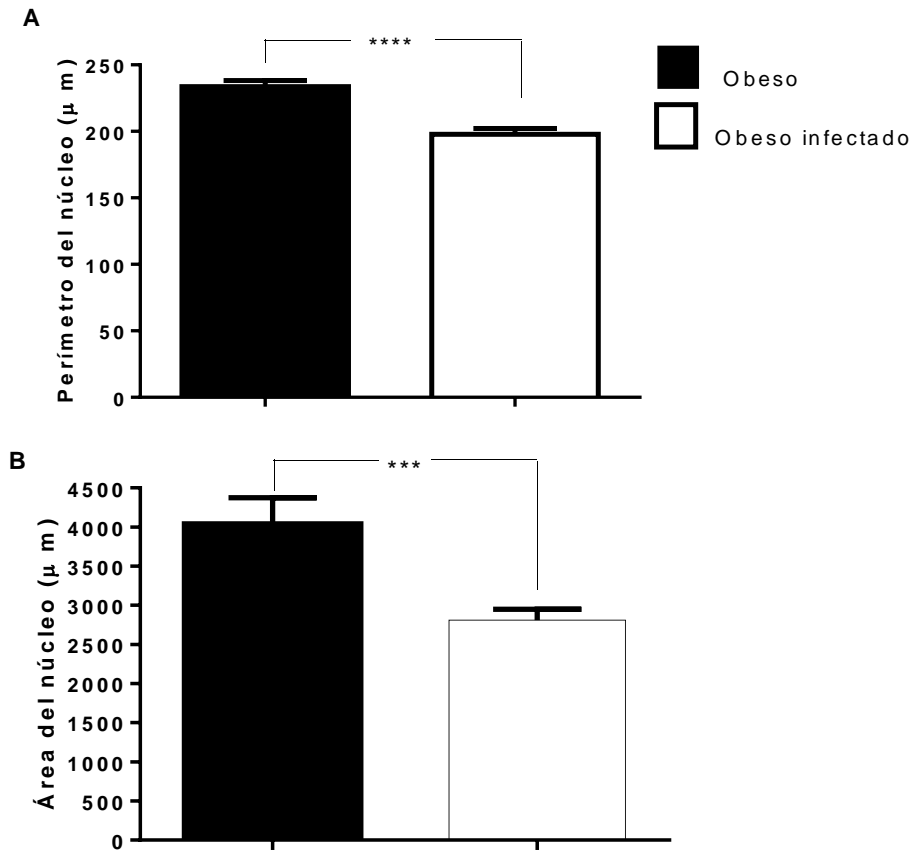
Los resultados del presente estudio generan nuevo conocimiento básico en la biología, además contribuirán para definir de una mejor manera los efectos que esta parasitosis tiene en la reproducción de la especie cunícola.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorista Abel Salvador Sánchez el apoyo en el procesamiento histológico. Domínguez-Roldan R (273755) y Arias HD (492304) agradecen la beca de CONACyT para llevar a cabo sus estudios de doctorado. Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto UAEM-UNAM (42467-2177-8-IX-15), otorgado a FIFP.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA



**Fig. 1** Características morfométricas del núcleo de las células de los acinos del epitelio secretor en las glándulas submandibulares de conejos obesos y obesos infectados. \*\*\*  $P \geq 0.001$  \*\*\*\*  $P \geq 0.0001$ ;  $X \pm EE$ , prueba de Mann-Whitney.

### Referencias bibliográficas

- González-Mariscal, G., Melo, A.I., Zavala, A., Chirino, R., Beyer, C. 1993. Sex steroid regulation of chin marking behavior in male New Zealand rabbits. *Physiol Behav* 54:1035–1040.
- Yang, Z., Grinchuk, V., Smith, A., Qin, B., Bohl, J., Sun, R., Notari, L., Zhang, Z., Sesaki, H., Urban, J.F., Shea-Donohue, T., Zhao, 2013. A. Parasitic Nematode-Induced Modulation of Body Weight and Associated Metabolic Dysfunction in Mouse Models of Obesity. *Infect Immun* 81(6):1905–1914.
- Yang, D., Fu, Y., Wu, X., Xie, Y., Nie, H., Chen, L., Nong, X., Gu, X., Wang, S., Peng, X., Yan, N., Zhang, R., Zheng, W., Yang, G. 2012. Annotation of the transcriptome from *Taenia pisiformis* and its comparative analysis with three *Taeniidae* species. *PLoS One* 7(4):e32283.
- Flatt, RE., Moses, RW. 1975. Lesions of experimental cisticercosis in domestic rabbits. *Lab Animal Sci* 25(2):162-167



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PARASITISMO GASTROINTESTINAL DE BECERROS Y BUCERROS CRIADOS EN UN SISTEMA DE PASTOREO MIXTO.

## GASTROINTESTINAL PARASITISM OF CALVES AND BUFALOES RAISED IN A MIXED GRAZING SYSTEM

Hernández MLN\*, Flores RS, Aguirre SM, Jiménez JJE, Hernández JC, Gallegos TLG, Gomez  
DDL, Ojeda RNF.

División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km 25  
Carr. Villahermosa-Teapa Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México.

\*Correspondencia: nojedard@hotmail.com

Palabras clave: Búfalos, Pastura, Bovinos.

### Resumen

Los parásitos gastrointestinales son un problema de salud en los sistemas de producción basados en pastoreo. La predominancia de los géneros y especies depende en gran medida del hospedero, por lo que es importante conocer el comportamiento de los parásitos en sistemas de producción mixtos en grupos de edades que son susceptibles. El objetivo fue determinar la prevalencia de parásitos gastrointestinales en búfalos y bovinos criados bajo un sistema de producción de pastoreo mixto. El trabajo se efectuó en una unidad de doble propósito, en el estado de Tabasco. Se realizó un estudio observacional prospectivo durante seis meses (Agosto 2017- enero 2018). Se incluyeron 32 bovinos y 30 búfalos (n= 62) desde recién nacidos hasta los seis meses de edad. Los animales pastorearon durante un periodo de 8 horas/día en praderas de pasto Camalote (*Paspalum fasciculatum*) y Remolino (*Paspalum notatum*). Se colectaron mensualmente muestras de heces directamente del recto de cada animal. Las muestras fueron procesadas mediante la Técnica de McMaster para determinar la eliminación de huevos por gramo de heces por especie animal. Se calculó la prevalencia por parásito y por especie animal durante el periodo. El 100 % de los animales muestreados fue positivo a parásitos gastrointestinales (62/62). En los becerros, los parásitos con mayor frecuencia pertenecen a la familia Trichostrongyloidea (67.7 %), seguido por *Eimeria* sp (27.6%), *Strongyloides* sp (26.0%) y *Trichuris* sp (1.6%), sin embargo, en el caso de los búfalos, los parásitos que se presentaron en mayor porcentaje fueron *Strongyloides* sp (58.9%), fam. Trichostrongyloidea (57.8 %), *Eimeria* sp (46.1%). El parásito *Toxocara* sp. (3.9%) se presentó únicamente en los Bucerros. Los bovinos y búfalos que son criados en pastoreo mixto presentan diferente prevalencia de parásitos gastrointestinales, siendo más importantes para los bovinos la familia Trichostrongyloidea y para los búfalos *Strongyloides* a pesar de que conviven en el mismo hábitat. Esto es importante ya que son las bases para establecer medidas de control y prevención por especie animal.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PARÁSITOS GASTROINTESTINALES PRESENTES EN PERROS DEL LA CIUDAD DE AGUASCALIENTES, MÉXICO.

### GASTROINTESTINAL PARASITES IN DOGS OF THE CITY OF AGUASCALIENTES, MEXICO.

Hernández VE<sup>\*1</sup>, Valdivia FA<sup>1</sup>, Cruz VC<sup>2</sup>, Ortiz MR<sup>1</sup>, Quezada TT<sup>1</sup>, Martínez RJ<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Apartado Postal 3, Jesús María, 20100 Aguascalientes, México. ehernand@correo.uaa.mx, ehdzv@yahoo.com.mx

<sup>2</sup> Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes. Aguascalientes, México.

<sup>3</sup> Centro Municipal De Control Canino y Felino. Aguascalientes, México. Apartado Postal 20175 Alcaldes N/A, Desarrollo Especial Rancho Pozo Bravo.

Palabras clave: Perros, parásitos gastrointestinales, Aguascalientes

#### Introducción

A través de años se ha realizado un cambio en la relación del hombre hacia los animales, en especial con los animales destinados a la compañía (perros y gatos) que han pasado a ocupar un lugar dentro del ambiente familiar y en algunos casos considerarlos un integrante más de la familia. La tenencia de perros, dependiendo de la actividad a la que se les destine, propicia un contacto físico entre ellos y sus propietarios u otras personas en diferentes grados, Se ha propuesto que dicho contacto implica un riesgo de adquirir enfermedades, particularmente para aquellas personas cuyo nivel socioeconómico es desfavorable, debido a la falta de orientación y conocimientos adecuados sobre la tenencia y manutención de dichos animales, lo que propicia un incremento de su población, con el consiguiente aumento de las posibilidades de impactar en la salud pública y el ambiente (Lohmann et al., 2004). Algunas de las enfermedades intestinales de los perros son ocasionadas por una diversidad de parásitos; aproximadamente la mitad de ellos se transmiten al humano comúnmente por vía oral, al ingerir fases infectantes, en este mismo sentido, diversos autores señalan los perros parasitados constituyen un riesgo de salud para los humanos con los cuales conviven (Acha and Szyfres, 2003).

#### Objetivos

Estimar la prevalencia de parásitos gastrointestinales en perros de la ciudad de Aguascalientes.

Analizar la influencia que tienen los factores de la edad, raza, género humedad relativa y temperatura ambiental sobre la prevalencia de parásitos gastrointestinales en perros de la ciudad de Aguascalientes.

#### Materiales y métodos

El estudio se realizó en la ciudad de Aguascalientes, Ags. (28°28'N, 21°37'S, 101°51'E, 102°53'W); Los climas que comparte la ciudad con el resto del Estado son: templado semiseco y semicálido semiseco, con lluvias en verano y con temperaturas anuales entre 17 y 20 grados centígrados con un promedio de 18.3; la humedad relativa promedio anual es de 45.2 % y una precipitación anual de



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

400-700 mm; una población total estimada de 877,190 habitantes y una población canina de 103,198 perros (INEGI, 2018). Esta investigación se realizó en el Centro Municipal de Control Canino y Felino de Aguascalientes (CMCCFA), donde se buscó identificar la prevalencia de parásitos intestinales en perros de la ciudad de Aguascalientes, que ingresaron durante un periodo de un año (2017).

El material biológico fueron perros que ingresaron al CMCCFA, obteniendo la siguiente información adicional para cada animal; raza, edad, género, con o sin propietario, tratamientos antihelmínticos previos. Se seleccionaron 727 perros (capturados en vía pública y entregados voluntariamente por sus propietarios), de un total de 7,524 que ingresaron al CMCCFA entre enero y diciembre del 2017. Posteriormente se llevó a cabo la eutanasia mediante la metodología descrita en la Norma Oficial Mexicana del Sacrificio Humanitario de los Animales Domésticos y Silvestres (Mexicana, 1995). Después del sacrificio se procedió a realizar una resección intestinal completa desde píloro hasta la ampolla rectal con la finalidad de coleccionar e identificar helmintos y para la obtención de muestras de heces por medio de un raspado de toda la mucosa para su posterior análisis (Thienpont, 1986). El procesamiento de muestras se efectuó en los Laboratorios de Parasitología Veterinaria del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Las muestras de heces se procesaron mediante el método directo con solución de Lugol y por el método de concentración con solución saturada de cloruro de sodio, los helmintos obtenidos fueron conservados en frascos en formol al 10% (Díaz et al., 1999). La identificación y cuantificación de helmintos adultos, huevos, trofozoitos, quistes, oquistes se realizó de acuerdo a las claves taxonómicas establecidas (Anderson et al., 2009).

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento para modelos lineales generales (GLM) y la prueba protegida de Fisher (LSD) del software Statistical Analysis System (SAS, 1999) para evaluar posibles asociaciones entre la presencia de helmintos y una variedad de factores (genero, raza, edad, con o sin propietario, temperatura y humedad relativa) considerando como significativo un nivel de confianza  $P < 0.05$ . Para determinar la prevalencia parásitos gastrointestinales se realizó la prueba de Chi-cuadrada.

### Resultados y discusión

Del total de los 727 perros analizados se encontró una prevalencia a parásitos gastrointestinales del 57.3%. La prevalencia mensual tuvo sus niveles más elevados durante los meses de julio a octubre con prevalencias desde el 66 a 76%, observándose una correlación directa entre la presencia de parásitos intestinales y la humedad relativa. La prevalencia de los parásitos encontrados en perros de la ciudad de Aguascalientes *Ancylostoma caninum* (15.6%), *Toxocara canis* (9.2%), *Toxascaris leonina* (0.5%), *Uncinaria stenocephala* (2.5%), *Dipylidium caninum* (26.2%), *Taenia hydatigena* (2.1%), *Taenia ovis* (1.9%), *Giardia* (13.6%), *Cystoisospora* (7.8%), *Sarcocystis* (5.2%) y *Oncicola canis* (0.14%). Los animales con una edad promedio de 0.0 y 0.5 años presentaron más problemas parasitarios con una prevalencia del 73.6% mientras que en los animales mayores de 10 años la prevalencia fue de 37.4%. En el estudio se observó diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) en la presencia de parásitos gastrointestinales en perros con entregados voluntariamente por sus propietarios a comparación con los perros capturados en vía pública, reportando una prevalencia del 43.6% contra el 65.3% respectivamente.

Otros autores han encontrado diferentes tasas de prevalencia en algunas ciudades de América Latina. Utilizando técnicas directas de concentración y sedimentación, reportando una prevalencias



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

del 40.1% en Perú (Trillo-Altamirano et al., 2003), 41.8% en Argentina (Sánchez et al., 2003), en México se ha reportado una prevalencia de parásitos en intestinos de perros callejeros de la ciudad de México, alcanzando una tasa global de prevalencia de 85%, mientras que *D. caninum* obtuvo una tasa de 60% (Eguia-Aguilar et al., 2005).

### Conclusiones

La prevalencia de parásitos entéricos mostró que uno de cada dos perros de la ciudad de Aguascalientes se encuentra parasitado por al menos una sola especie parasitaria. El haber identificado parásitos como *Dipylidium caninum*, *Ancylostoma caninum*, *Giardia canis* y *Toxocara canis* con prevalencias del 26.2, 15.6, 13.6%, 9.2 % respectivamente, es sumamente importante debido a que su presencia pudiera representar un riesgo potencial zoonótico a las personas con los cuales están en contacto. La prevalencia en el grupo de perros entregados voluntariamente por su propietario al CMCCFA presenta una diferencia estadística altamente significativa ( $P < 0.01$ ) contra la prevalencia observada en perros capturados en vía pública, siendo estos últimos de gran importancia en la diseminación, contagio y mantenimiento de las enfermedades parasitarias.

La correlación positiva existente entre la prevalencia de parásitos intestinales con la humedad relativa media mensual de la ciudad de Aguascalientes es importante para el establecimiento de medidas para el control integral de las parasitosis gastrointestinales en perros. En general, las evidencias aportadas en esta investigación sugieren que las parasitosis gastrointestinales de los perros constituyen un riesgo potencial importante para la salud pública y animal en Aguascalientes, México.

### Implicaciones.

El presente estudio marca una pauta en la clínica veterinaria de pequeñas especies del estado de Aguascalientes, sirviendo de manera objetiva en brindar información epidemiológica a los médicos clínicos para el control, prevención y tratamiento de cada una de las diferentes parasitosis gastrointestinales en perros.

### Agradecimientos y/o fuente financiadora

El presente estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT; proyecto: 178546), Universidad Autónoma de Aguascalientes (proyecto: PIP 15.1). Centro Municipal de Control Canino y Felino de Aguascalientes por permitirnos el acceso a sus instalaciones.

### Referencias bibliográficas

- Acha, P.N., Szyfres, B., 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales: Volumen III: Parasitosis. Organización Panamericana de La Salud.
- Anderson, R.C., Chabaud, A.G., Willmott, S., 2009. Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume. Cabi.
- Díaz, J., Chávez, A., Casas, E., 1999. Comparación de dos métodos convencionales de diagnóstico de nematodos intestinales en *Canis familiaris* con el examen post-mortem. Rev. Investig. Vet. del Perú 10, 56–60.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Eguia-Aguilar, P., Cruz-Reyes, A., Martínez-Maya, J.J., 2005. Ecological analysis and description of the intestinal helminths present in dogs in Mexico City. *Vet. Parasitol.* 127, 139–146.
- INEGI, 2018. No Title [WWW Document]. Inst. Nac. Estadística y Geogr. URL <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=01#> (accessed 4.22.18).
- Lohmann, R.L.P., Romero, S.D., De Miguel, V.N.A., Mendoza, B.M.A., Abeledo, G.M.A., 2004. Giardiasis en Población Infantil y Perros en dos Comunidades Rurales de Veracruz, México, in: *Giardiasis in Infantile Population and Dogs, in Two Rural Communities of Veracruz, Mexico. Memorias En Resumen Del Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria.* Colima, México.
- Mexicana, N.O., 1995. NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. D. Of. la Fed. México DF, México.
- Sánchez, P., RASO, S., Torrecillas, C., Mellado, I., Ñancuñil, A., Oyarzo, C.M., Flores, M.E., CÓRDOBA, M., Minvielle, M.C., Basualdo, J.A., 2003. Contaminación biológica con heces caninas y parásitos intestinales en espacios públicos urbanos en dos ciudades de la Provincia del Chubut: Patagonia Argentina. *Parasitol. Latinoam.* 58, 131–135.
- Thienpont, D., 1986. Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico.
- Trillo-Altamirano, M. del P., Carrasco, A.J., Cabrera, R., 2003. Prevalencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos y factores asociados en Canis familiaris en una zona urbana de la ciudad de Ica, Perú. *Parasitol. Latinoam.* 58, 136–141.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN RANA TORO (*Lithobates catesbeianus*) EN GRANJAS ACUÍCOLAS DE 3 ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA

## IDENTIFICATION OF GASTROINTESTINAL PARASITES IN BULLFROG (*Lithobates catesbeianus*) IN AQUACULTURE FARMS OF 3 STATES OF THE MEXICAN REPUBLIC

Hernández VE<sup>\*1</sup>, Islas OE<sup>1</sup>, Casillas PR<sup>1</sup>, García MAM<sup>1</sup>, López GMA<sup>1</sup>, García MCA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Jesús María, CP 20100 Aguascalientes, México. ehernand@correo.uaa.mx, ehdzv@yahoo.com.mx

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo Km. 38.5 CP 56230. Carretera México – Texcoco Chapingo, Texcoco, Estado de México

Palabras clave: Rana Toro, acuacultura, parásitos gastrointestinales

### Resumen

El objetivo del presente estudio, es estimar la prevalencia de parásitos gastrointestinales en rana toro (*Lithobates catesbeianus*) en unidades de producción acuícolas (UPA) de tres estados de la República Mexicana. Llevándose a cabo durante los meses de enero a diciembre 2019. Se realizará en 31 UPA de Aguascalientes Jalisco y Zacatecas destinadas a la producción de carne de rana. El material biológico, serán ranas colectadas de cada granja proveniente de los tres estados, registrando por cada ejemplar la siguiente información; Morfometría, edad, género, peso, municipio, estado, nombre de la granja, tratamientos antihelmínticos previos. Las ranas colectadas se sacrificarán, mediante la metodología descrita en la Norma Oficial Mexicana. Después del sacrificio se procederá a realizar una resección intestinal completa desde píloro hasta el recto para coleccionar helmintos y obtención de muestras de heces (Thienpont, 1986). El procesamiento de muestras se realizará en los Laboratorios de Parasitología Veterinaria del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Las muestras de heces se procesarán mediante el método de concentración con solución de sulfato de zinc al 33%, los helmintos colectados se conservarán en frascos en formol al 10% (Díaz et al., 1999). La identificación y cuantificación de helmintos adultos, huevos, quistes y ooquistes se realizará de acuerdo a las claves taxonómicas establecidas (Anderson et al., 2009). Los datos obtenidos serán sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento modelos lineales generales (GLM) y la prueba protegida de Fisher (LSD) del software Statistical Analysis System (SAS, 1999), para evaluar posibles asociaciones entre la presencia de helmintos y una variedad de factores (género, edad, temperatura y humedad relativa) considerando como significativo un nivel de confianza  $p < 0.05$ . Para determinar la prevalencia parásitos gastrointestinales, se realizó la prueba de Chi-cuadrada. Los resultados preliminares muestran una prevalencia del 23% a parásitos intestinales pertenecientes al género *Eimeria* principalmente en animales en desarrollo y finalización en ranas de UPA de Aguascalientes.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SARCOMA ESOFÁGICO ASOCIADO A UNA INFECCIÓN POR *Spirocerca lupi* en UN PERRO MESTIZO

## ESOPHAGEAL SARCOMA ASSOCIATED TO *Spirocerca lupi* INFECTION IN A CROSSBREED DOG

Isaac SCA<sup>1</sup>, López LG<sup>1</sup>, Serrano PJ<sup>1</sup>, Martínez RIZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; <sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. i\_abel@hotmail.com

Palabras clave: *Spirocerca lupi*, fibrosarcoma, esophagus.

### Introducción

Las neoplasias esofágicas en perros son poco frecuentes, siendo el carcinoma de células escamosas, leiomioma y leiomiosarcoma los más reportados; sin embargo, en las regiones con presencia de *Spirocerca lupi* (*S.lupi*), se presentan sarcomas asociados a dicha infección, siendo el osteosarcoma, fibrosarcoma y el sarcoma pobremente diferenciado los más reportados.<sup>1,2</sup>

*Spirocerca lupi*. Es un nematodo de distribución mundial, común en países tropicales y subtropicales, particularmente en áreas rurales.<sup>2,3</sup> Países como México, Israel, Grecia, Iraq, Irán, India, Malasia, Marruecos, Sudáfrica, Brasil, Jamaica y Estados Unidos han publicado reportes recientemente.<sup>3</sup> El parásito mide aproximadamente 1 mm de grosor y de 30 a 80 mm de longitud, es rojo brillante a rosa y sus huevos larvados miden de 11 a 37 micrómetros.<sup>3,4</sup> En cuanto a las especies afectadas se encuentran los perros, coyotes, lobos, zorros y chacales, así como felinos domésticos y silvestres.<sup>3</sup>

*S.lupi* es transmitida por las diferentes especies de escarabajos coprófagos, ya que este funge como huésped intermediario al ingerir los huevos, lo que permitirá a la larva eclosionar y desarrollar su estado infectivo (larva 3), en aproximadamente dos meses.<sup>3,4,5</sup> Dicha larva puede pasar directamente del escarabajo al huésped definitivo (carnívoro) por consumo directo, o tener algún otro huésped paraténico transportador que hayan consumido escarabajos infectados previamente y que este termine como alimento del huésped definitivo. Los huéspedes paraténicos más comunes son: ratones, lagartijas, pájaros, conejos y erizos.<sup>1,3,5</sup>

Una vez que el carnívoro ingiere la larva infectiva, esta penetra la mucosa estomacal y migra a través de las arterias gástricas hacia la porción torácica de la aorta. En aproximadamente 3 meses post-infección la larva migrara de la aorta hacia el esófago, donde penetra la submucosa y ocasionan una reacción inflamatoria de tipo granulomatosa.<sup>1,3,5,6</sup> En algunas ocasiones las larvas pueden adoptar rutas migratorias aberrantes, causando granulomas en: tejido subcutáneo, vejiga, riñón y médula espinal, así como estómago y regiones intratorácicas.<sup>3,5</sup>

Las manifestaciones clínicas en los pacientes infectados con *S. lupi* dependen de la cronicidad, localización y severidad de las lesiones, sin embargo, los signos clínicos mas comunes son: vomito o regurgitación, letargo, anorexia, pirexia, melena y paraparesia.<sup>2,3,4,5</sup>



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Los exámenes de laboratorio clínico tienden a ser inespecíficos, en los que se incluye anemia microcítica hipocrómica moderada, leucocitosis y en fases avanzadas incremento de la creatinina. <sup>2,3</sup>

Los granulomas esofágicos y aneurismas aórticos, son las lesiones más frecuentes en la espirocercosis y adicionalmente se puede encontrar espondilitis de las vértebras torácicas caudales y desarrollo de una osteopatía hipertrófica. <sup>1,3,5</sup>

El mecanismo de transformación de los granulomas hacia un sarcoma inducido por *S. lupi* no ha sido dilucidado y los pacientes que comúnmente desarrollan los sarcomas son perros, con una edad promedio de 6.4 años y típicamente se desarrollan en lesiones crónicas. <sup>1,3</sup>

Existen múltiples técnicas para realizar el diagnóstico de espirocercosis en pacientes vivos, siendo la flotación fecal una de las más utilizadas, sin embargo, debido a que los huevos de *S. lupi* son liberados esporádicamente, un resultado negativo no es definitivo; por tal motivo la endoscopia constituye una prueba clínica de gran valor, ya que nos permite la visualización de la lesión, así como la obtención de una biopsia. <sup>1,3,7</sup>

### DESCRIPCIÓN DEL CASO:

El cadáver de un perro (*Canis lupus familiaris*), macho, mestizo y adulto, proveniente del municipio de Tecamachalco, Puebla, fue examinado en el aula de necropsias durante la clase de Patología General en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (FMVZ-BUAP). Dicho cadáver llegó en calidad de donación y no contaba con datos generales o historia clínica de referencia.

### HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

A la inspección externa, el cadáver presentó mala condición corporal y regular estado de conservación. Al incidir la cavidad torácica, la porción anterior de la aorta exhibía una dilatación sacular de aproximadamente 1.5 cm de eje mayor, cuya pared era irregular y de consistencia firme a dura.

En la porción torácica del esófago, se apreciaron dos nódulos coalescentes bien delimitados, los cuales en promedio tenían 5 cm de diámetro cada uno y presentaban consistencia firme. Al corte su superficie era fasciculada y blanca con un centro amarillo y de aspecto granular, entre los cuales se observaban abundantes nematodos rojo claro compatibles con *S. lupi*.

### HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

El estudio histopatológico de las muestras de esófago, revelan un tejido de nueva formación parcialmente delimitado a nivel de la submucosa y extendiéndose a la túnica muscular. Dicho tejido está compuesto por células fusiformes neoplásicas de bordes mal definidos, que se disponen en haces cortos entrecruzados y tienen de moderado a escaso citoplasma eosinófilo con vacuolas ocasionales. Los núcleos son ovales y alargados, pleomórficos y eucromáticos con 1 nucléolo ocasional y de 0 a 1 figuras mitóticas atípicas por campo aleatorio con el objetivo 40X (figura 1). Alrededor del tejido neoplásico se observa marcada proliferación de fibras de colágena, así como



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

abundante infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos, eosinófilos e histiocitos, entre los cuales se aprecian múltiples nematodos y huevos embrionados (figura 2). En algunas regiones hay áreas de necrosis, así como proliferación de fibroblastos y vasos sanguíneos de nueva formación.

Diagnósticos morfológicos:

Esófago:

- Compatible con fibrosarcoma.
- Esofagitis granulomatosa y eosinofílica grave zonalmente extensiva, con fibrosis, proliferación de tejido de granulación y presencia de nematodos intralesionales consistentes con *Spirocerca lupi*.

Arteria aorta:

- Aneurisma aórtico grave zonal con mineralización multifocal.

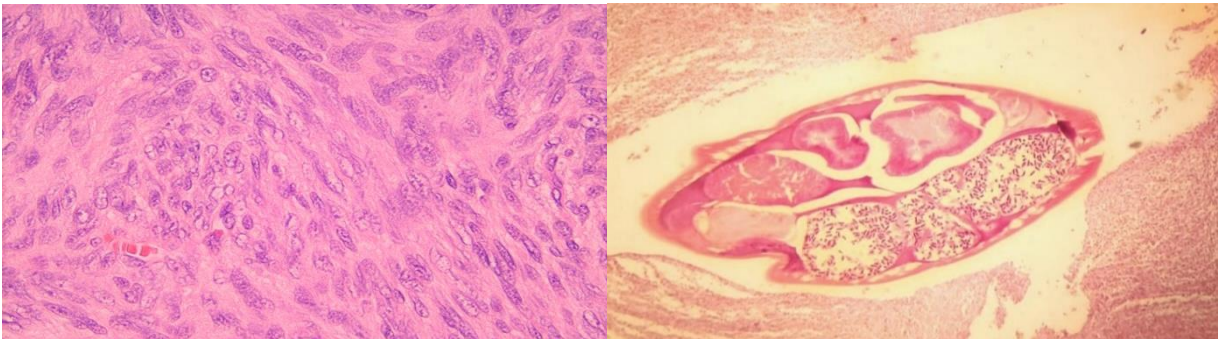


Figura 1. H&E 400X, Sarcoma esofágico

Figura 2. H&E 40X, Nematodo de *Spirocerca lupi*.

### PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Histoquímica

Se realizó una tinción tricrómica de Masson, donde se comprobó la presencia de tejido conectivo fibroso (azul) y negatividad para musculo, en la zona neoplásica.

### CRITERIO DIAGNÓSTICO

Los criterios se basan en: 1 Las características macroscópicas y distribución de las lesiones, las cuales son características de la enfermedad, así como la presencia del parásito y su morfología macroscópica. 2 Las características microscópicas de la neoplasia y proceso inflamatorio, así como de las estructuras parasitarias y sus huevos. 3 La positividad para tejido conectivo fibroso por parte de la tinción tricrómica de Masson.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES:

- Fibrosarcoma.
- Leiomioma.
- Sarcoma pobremente diferenciado.

### Discusión y conclusión

Los hallazgos del estudio *post-mortem*, fueron concluyentes para diagnosticar la infección por *S. lupi*, donde se pudieron evidenciar las lesiones patognómicas descritas en la literatura, como el aneurisma aórtico y esofagitis nodular, con la presencia de múltiples nematodos intralesionales los cuales en promedio median 6 cm de longitud por 1 mm de grosor.<sup>1,3,4</sup>

El estudio histopatológico clasificó el proceso inflamatorio como una reacción granulomatosa y eosinofílica y a su vez evidenció la presencia de un sarcoma; ambos procesos asociados a la presencia de *S. lupi*.

En este caso, las características histológicas de la neoplasia, aunadas a la presencia de abundante tejido conectivo fibroso evidenciado con la tinción tricrómica de Masson, dejan como principal diagnóstico diferencial al fibrosarcoma; sin embargo, es importante mencionar que el diagnóstico definitivo, se realiza por medio de inmunohistoquímica (CKs-, VIM+, CD45/CD18-, S100-, desmina-, CD31-, Factor VIII-rAg- y CD34-)<sup>1</sup> o por microscopia por electrónica (ausencia de membrana basal, morfología fusiforme que asemeja a fibroblastos normales y presencia de fibras de colágena entre las células neoplásicas).<sup>1,8</sup>

La espirocercosis es una enfermedad de distribución mundial, con predominio en las regiones tropicales y subtropicales.<sup>3,6,8</sup> Estudios en México han arrojado prevalencias de 4.5 % y 5.3 % en los estados de Yucatán y Querétaro respectivamente.<sup>8</sup>

Dicha enfermedad afecta principalmente a perros de áreas rurales, ya que estos tienen un mayor contacto con los huéspedes intermediarios y paraténicos.<sup>2,3,8</sup>

El presente caso se encontró en el municipio de Tecamachalco, Puebla, el cual cuenta con una población de 71,571 habitantes y una extensión de 180.965 Km<sup>2</sup>, siendo uno de los municipios más poblados del estado.<sup>9</sup>

Las principales actividades económicas de la región son la agricultura y ganadería<sup>9</sup>, por lo que gran parte de su superficie está constituida por áreas rurales, lo que, aunado a la creciente población de perros callejeros, da las condiciones propicias para el desarrollo y proliferación del parásito. A pesar de esto, no existen reportes previos de espirocercosis canina en el municipio de Tecamachalco o sus alrededores, por lo que consideramos que la publicación de este caso es de gran importancia, ya que abre la puerta a futuros estudios que nos permitan conocer la prevalencia y el impacto real de la enfermedad en la región.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

1. Munday J, Löhr C, Kiupel M. Tumors In Domestic Animals. 5th ed. Iowa: Wiley-Blackwell; 2016:549-552.
2. Ranen E, Lavy E, Aizenberg I, Perl S, Harrus S. Spirocercosis-associated esophageal sarcomas in dogs. *Vet Parasitol.* 2004;119(2-3):209-221. doi:10.1016/j.vetpar.2003.10.023
3. Baneth G. The Pathogenesis of Canine Spirocerca lupi Infection - WSAVA2004 - VIN. *Vin.com.* <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?meta=Generic&pld=11181&id=3852236>. Published 2019. Accessed June 3, 2019.
4. Ribelin W, Bailey W. Esophageal sarcomas associated with spirocerca lupi infection in the dog. *Cancer.* 1958;11(6):1242-1246. doi:10.1002/1097-0142(195811/12)11:6<1242::aid-cncr2820110621>3.0.co;2-b
5. Jubb K, Kennedy P, Palmer N. *Pathology Of Domestic Animals.* 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016:638-639.
6. van der Merwe L, Kirberger R, Clift S, Williams M, Keller N, Naidoo V. Spirocerca lupi infection in the dog: A review. *The Veterinary Journal.* 2008;176(3):294-309. doi:10.1016/j.tvjl.2007.02.032
7. Rodríguez R, Cordero L, Trinidad I, Ojeda M. Spirocerca lupi en perros de Yucatán, México: Reporte de caso y estudio retrospectivo. *Revista MVZ Córdoba.* 2019;24(1):7145 - 7150. doi:10.21897/rmvz.1602
8. Tobey D, Wheelis R, Yarrington C. Electron Microscopy in the Diagnosis of Liposarcoma and Fibrosarcoma of the Larynx. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology.* 1979;88(6):867-871. doi:10.1177/000348947908800623
9. Secretaria de Desarrollo Social. Cédula de información municipal. *Microrregiones.gob.mx.* <http://www.microrregiones.gob.mx/zap/datGenerales.aspx?entra=pdzp&ent=21&mun=154>. Publicada 2014. Acceso junio 10, 2019.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE IVERMECTINA EN EMULGEL APLICADO TÓPICAMENTE CONTRA LARVAS DE *Ancylostoma caninum* EN RATONES MACHOS CD1 CON INFECCIÓN INDUCIDA

### ANTIPARASITIC ACTIVITY OF IVERMECTIN IN EMULGEL APPLIED TOPICALLY AGAINST LARVAE OF *Ancylostoma caninum* IN MALE MICE CD1 WITH INDUCED INFECTION

Islas RPB<sup>1</sup>, Quintanar GD<sup>1</sup>, Martínez LJP<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. jpmlabat@gmail.com

Palabras clave: *Ancylostoma caninum*, Ivermectina, Emulgel

#### Resumen

La ancilostomiasis canina afecta de forma importante a los animales requiriendo tratamiento preventivo y de control. Se evaluó la actividad antiparasitaria de una formulación de Ivermectina en emulgel al 0.008% contra larvas enquistadas de *Ancylostoma caninum* en ratones con infección inducida. Se formaron 7 grupos de 10 ratones con infección inducida usando 500 larvas 3 de *Ancylostoma caninum* vía oral. El grupo 1 y 2 correspondieron al control inoculado no tratado y control no inoculado y no tratado, el 3 inició tratamiento con dosis de .2 mg/kg el día posterior a la inoculación para evaluar inhibición migratoria, los grupos 4 a 7 fueron tratados 30 días después de inocularlos, 30 días después se sacrificó el grupo 1, 2 y 3, el 4 recibió un tratamiento sacrificándolo a los 30 días, el 5 recibió dos tratamientos sacrificándolo a los 60 días, el 6 recibió tres tratamientos sacrificándolo a los 90 días y el 7 recibió 4 tratamientos sacrificándolo a los 120 días. De cada animal se extrajo el bazo, cerebro, corazón, hígado, músculo esquelético, pulmón y riñón y se sometieron a digestión artificial del tejido para lograr la liberación de las larvas y cuantificarlas al microscopio. Los datos obtenidos se procesaron mediante análisis de varianza y se aplicó la prueba de Wescot para obtener el porcentaje de eficacia del emulgel. El cerebro y músculo esquelético fueron los tejidos con más larvas. La inhibición migratoria al aplicar el producto al día siguiente de la inoculación fue del 96.3%, una eficacia de 92.6% con la primera y segunda aplicación, mientras que en la tercera de 96.2% alcanzando el 100% con 4 aplicaciones del emulgel, el análisis de varianza demostró significancia estadística ( $F_c=18.5$ , valor crítico 2.24). Los resultados prueban la efectividad de esta formulación antiparasitaria en este modelo experimental.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**HALLAZGO DE *Ozolaimus megatyphlon* EN IGUANAS (*Iguana iguana*) DE UNA HUMA DE  
MERIDA, YUCATÁN**

**FINDING OF *Ozolaimus megatyphlon* IN IGUANAS (*Iguana iguana*) OF A HUMA IN MERIDA,  
YUCATAN**

\*Martínez A<sup>1</sup>, Padilla AP<sup>1</sup>, Figueroa CJ<sup>1</sup>, Romero CE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico Parasitológico, Departamento de Parasitología, FMVZ-UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, CDMX. eva\_romeroc@yahoo.com.mx

Palabras clave: Iguana, *Ozolaimus Megatyphlon*, Oxyuridae

## Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo identificar parásitos intestinales en Iguanas (*Iguana iguana*) de una Huma de Mérida, Yucatán. Se trabajó con 16 iguanas muertas se remitieron al Laboratorio de Diagnóstico de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en donde se realizó la disección del intestino; en el ciego se recolectaron los parásitos, y se fijaron en alcohol al 70% los nematodos fueron aclarados en lactofenol de Amman para su posterior identificación. y poder ver en el microscopio detalles morfológicos con el objetivo de 40x. Se identificaron 10 machos y 10 hembras de la familia Oxyuridae que corresponden al oxyurido *Ozolaimus megatyphlon*. Los resultados demuestran que los reptiles son portadores de varias especies de parásitos; presumiblemente infectados antes de la importación y muerte por sobrecarga parasitaria, mala alimentación, higiene del terrario. El reconocimiento de esta condición, que puede ser recientemente introducido o diagnosticado en forma insuficiente, puede ayudar a mejorar los estándares médicos y comerciales relacionados con esta especie en la práctica.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**ACTIVIDAD DE IVERMECTINA AL 0.5% EN EMULGEL, APLICADO TÓPICAMENTE CONTRA LARVAS DE *Toxocara canis* EN RATONES MACHOS CON INFECCIÓN INDUCIDA.**

**IVERMECTIN ACTIVITY OF A 0.5% GEL, IN TOPIC APPLICATION AGAINST *Toxocara canis* LARVAE IN MALE MICE WITH INDUCED INFECTION.**

Martínez LJP\*, Quintanar GD, Sánchez VB

Laboratorio de Parasitología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. [jplmlabat@gmail.com](mailto:jplmlabat@gmail.com)

Palabras clave: *Toxocara canis*, Ivermectina, Emulgel.

## **Resumen**

La toxocariosis canina debe atacarse de forma permanente por sus efectos sobre los animales y potencial zoonótico. Este estudio se desarrolló para evaluar el efecto de una formulación de ivermectina al 0.5% en emulgel en un modelo murino. Se utilizaron 70 ratones machos CD1 divididos en 7 grupos, uno se usó como control negativo (no inoculado y no tratado), seis grupos fueron inoculados con 500 huevos larvados de *Toxocara canis*, cinco fueron tratados con dosis de 0.2 mg/kg del producto tópicamente y el 6 como control positivo (inoculado no tratado). El grupo 1 se trató el día 1 para determinar bloqueo de migración y el resto para determinar el efecto de reducción de cantidad de larvas con dosis diferidas cada 30 días sobre las fases enquistadas, el grupo 2: un tratamiento, el 3: dos tratamientos, el 4: tres tratamientos y el 5: cuatro tratamientos. Cada uno de estos grupos fue sacrificado en lapsos mensuales, sus órganos sometidos a digestión artificial y posteriormente a conteo larvario del sedimento obtenido para detectar larvas persistentes. En el grupo 1 hubo una reducción de 90.8% de larvas respecto al Grupo 6, en el 2 la reducción fue de 63.34%, en el 3 la reducción fue del 76.82%, para el 4 del 78.76% y el 5 del 80.5%. La eliminación de larvas fue más notoria en tejidos como el cerebral y muscular esquelético, observando un fenómeno que implica una reducción muy gradual de larvas en el primero (zona no accesible a la ivermectina) contra una persistencia de números reducidos en tejido muscular el cual presenta una gran accesibilidad al medicamento. Por lo observado en el modelo se puede establecer que esta formulación elimina las larvas somáticas, requiriendo de uno o dos tratamientos adicionales para bloquear el potencial de las diferentes formas de transmisión del nematodo.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE CUATRO PRODUCTOS COMERCIALES CONTRA *Ancylostoma caninum* y/o *Toxocara canis* EN PERROS INFECTADOS NATURALMENTE.

### EVALUATION OF ACTIVITY OF FOUR COMMERCIAL PRODUCTS AGAINST *Ancylostoma caninum* and/or *Toxocara canis* IN DOGS WITH NATURAL INFECTION.

Martínez LJP

Laboratorio de Parasitología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.  
jpmlabat@gmail.com

Palabras clave: *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, Antiparasitario.

#### Resumen

Este estudio se desarrolló para comparar cuatro antiparasitarios comerciales: el 1 formulado con Afoxolaner y Milbemicina oxima, el 2 formulado con ivermectina, Pamoato de Pirantel, Febantel y Praciquantel, el 3 formulado con Embonato de Pirantel, Febantel y praciquantel y el 4 con Febantel, Pirantel y Praciquantel que se dosificaron de acuerdo a las indicaciones de los fabricantes. El estudio se efectuó como prueba crítica empleando 40 cachorros de entre 1.5 y 3 meses de edad. Se formaron cuatro grupos, el primero se trató con el producto 1, el segundo con el 2, el tercero con el 3 y el cuarto con el 4. Los conteos de huevos se hicieron mediante la técnica de McMaster durante 20 días, 4 antes del tratamiento y 16 postratamiento en que fueron sacrificados para buscar fases adultas. La eficacia obtenida en la reducción de huevos fue determinada con la ecuación de Wescott. En el grupo uno los 10 cachorros presentaron solo *T. canis*, sus conteos de huevos se redujeron 100% sin presencia de fases adultas, el grupo dos tuvo 3 cachorros con infección mixta y 7 con *A. caninum*, con reducción del 99% de huevos persistiendo *T. canis*, cuatro de los animales presentaron fases adultas de ese nematodo, en el grupo tres 9 de los 10 animales tuvo parasitismo mixto y uno solo *T. canis*, los conteos al día 16 fueron de cero y no se recuperaron fases adultas, en el grupo cuatro se encontraron 5 animales con parasitismo mixto y cinco con *T. canis* y los conteos de huevos al final se redujeron 100%, pero a la necropsia 3 de los 10 animales presentaron adultos de *T. cani*. El estudio demuestra la necesidad de probar periódicamente los productos comerciales para determinar su desempeño y establecer estrategias de uso y ajustes a dosificaciones.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA REGIÓN VULVAR DE HEMBRAS ADULTAS DE *Haemonchus contortus*: CEPA MEXICANA

### MORPHOLOGICAL FEATURES OF VULVAR REGION OF A MEXICAN STRAIN OF *Haemonchus contortus*

Martínez OdeMC<sup>1\*</sup>, Torres AJFJ<sup>2</sup>, Sandoval CCA<sup>2</sup>, Méndez deGP<sup>3</sup>, Hoste H<sup>4,5</sup>, Fourquaux I<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Colonia UNAM, CU. Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, CCBA, Universidad Autónoma de Yucatán, Km. 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México.

<sup>3</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP, Paseo Cuaunahuac No. 8534, Progreso, Jiutepec, C.P. 62550. Morelos, México.

<sup>4</sup>INRA UMR 1225 IHAP INRA / ENVT, 23 chemin des Capelles F 31076 Toulouse Cedex, France.

<sup>5</sup>Université de Toulouse; ENVT; UMR 1225; F-31076 Toulouse, France.

<sup>6</sup>CMEAB, Faculté de Médecine de Rangueil, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.  
cintli@unam.mx

#### Resumen

*Haemonchus contortus* (Rudolphi 1803) es causa importante de nematodosis gastrointestinal y pérdidas de producción entre los pequeños rumiantes de pastoreo en todo el mundo. La identificación de los parásitos adultos de *H. contortus* después de los procedimientos *post mortem* se basa en la identificación de la bolsa de los machos, con el rayo dorsal asimétrico característico. Sin embargo, la identificación de *H. contortus* en hembras adultas es menos frecuente, ya que las estructuras vulvares pueden variar incluso entre hembras de un mismo aislado. El presente estudio utilizó la Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) para mostrar los apéndices vulvares que se pueden observar en la hembra adulta *H. contortus* de un solo aislado mexicano. Se utilizaron cabras sin parásitos que fueron infectadas artificialmente con L<sub>3</sub> de un solo aislado de *H. contortus* en el día 0. Cuando las cabras mostraron una infección patente (día 28), los animales se sometieron a la necropsia. Los respectivos abomasos se ligaron y se extrajeron del abdomen para obtener hembra parásitas adultas. Se utilizaron un total de 16 hembras adultas para obtener las imágenes de MEB de la vulva. A partir de esos parásitos fue posible identificar 3 tipos diferentes de apéndices vulvares: *lengüeta o colgajo vulvar*, *epiptigma* y *membrana vulvar*. Este estudio constituye una posible evidencia del polimorfismo intraespecífico de los apéndices vulvares en la especie, lo cual fue evidente en un número muy pequeño de hembras adultas. Estas ilustraciones pueden ayudar a otros investigadores a identificar los apéndices vulvares de *H. contortus*. Otros estudios podrían intentar identificar si esas diferencias en las estructuras vulvares están asociadas o explicadas por una clara variabilidad genética entre individuos del mismo aislado.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD DE FACTORES INMUNES EN RESPUESTA AL PRODUCTO DE EXCRECIÓN Y SECRECIÓN DE 70 kDa DE *Haemonchus placei* L<sub>4</sub>

## IMMUNE FACTOR ACTIVITY IN RESPONSE TO EXCRETORY AND SECRETORY PRODUCT OF 70 KDA FROM *Haemonchus placei* L<sub>4</sub>

Maza LJ<sup>1</sup>, López AME<sup>2</sup>, Perea AIC<sup>1</sup>, Contreras OCO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UAEM, CEIB. Cuernavaca, Mor., <sup>2</sup>CENID-SAI INIFAP, Jiutepec, Mor., México.  
mlopez.arellano@gmail.com <sup>3</sup>INSP. Cuernavaca, Mor.  
jomal1993@gmail.com

Palabras clave: *Haemonchus placei*, Factores inmunes, Antígeno

### Introducción

En México, el ganado bovino bajo sistemas de pastoreo enfrenta severos problemas de parásitos destacando los nematodos gastrointestinales (NGI), principalmente en regiones tropicales donde uno de los nematodos altamente patógeno es *Haemonchus placei* (Waruiru *et al.*, 2001). El control de las infecciones parasitarias en bovinos ha sido afectado en los últimos años por el uso inadecuado de fármacos, provocando resistencia múltiple a los antihelmínticos. Por esta razón, en la actualidad se han buscado nuevas alternativas de control con base en el conocimiento de la respuesta inmune, como es el uso de agentes inmunizantes (Halliday *et al.*, 2009). Para alcanzar este objetivo, se ha planteado la utilización de Productos de Excreción y Secreción (ESP) liberados por estadios endoparásitos de nematodos como *H. placei*, los cuales al ingresar al tejido del hospedero rompen células y liberan antígenos capaces de estimular diversos factores inmunes. Previa investigación, describen a los ESP de NGI como proteínas con actividad proteolítica con participación durante la invasión a tejido, evolución del nematodo, digestión de nutrientes y modulación de la respuesta inmune (Knox, *et al.*, 2003).

Los animales han desarrollado diversos mecanismos inmunes para protegerse del daño causado por este tipo de patógeno. Por ejemplo, los mecanismos caracterizados por el incremento de linfocitos tipo T<sub>H2</sub> con la presencia de glicoproteínas de membrana tipo CD4<sup>+</sup> unidos al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase II (Peña *et al.*, 2006). Los linfocitos T<sub>H2</sub> CD4<sup>+</sup> activados inician una cascada de señalización para estimular mecanismos celulares a través de la secreción de citocinas (IFN $\gamma$ , IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, TGF $\beta$ , etc.). Estas contribuirán a la regulación de la infección a través de la estimulación de células inflamatorias y producción de anticuerpos (Craig *et al.*, 2007). Debido a que los ESP son liberados durante el desarrollo y alimentación de estadios endoparásitos de NGI (Knox *et al.*, 2003), el estudio de la funcionalidad de los mismos en la respuesta al daño por *H. placei* permitirá analizar la actividad biológica de éstos antígenos y desarrollar posibles agentes vacunales, como sistemas preventivos.

### Materiales y métodos

Obtención del primer estadio endoparásito (L<sub>4</sub>): Larvas infectantes de *H. placei* fueron obtenidas de coprocultivos de becerros donadores del Sitio Experimental "Las Margaritas" del INIFAP, Hueytamalco, Puebla. Los detritus fecales fueron eliminados por gradientes de densidad con



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

sacarosa (40%) y la cubierta de queratina fue eliminada con hipoclorito de sodio (0.187%). Posteriormente, las larvas fueron incubadas con medio Hank's, antibiótico-antimicótico y eritrocitos de bovinos.

**Productos de Excreción y Secreción:** El sobrenadante obtenido de larvas en cultivo se colectó a las 48 h. Posteriormente, se estimó la concentración de proteína por el método de Bradford (1976). El análisis de las proteínas se realizó en geles de poliacrilamida (PAGE) desnaturalizados con SDS (10%). La separación de proteínas para determinar el punto isoeléctrico (pI) se realizó mediante electroforesis bidimensional.

**Proliferación celular:** Células mononucleares (PBMCs) fueron separadas por gradiente de densidad con Lymphoprep (Axis-Shield PoC AS®). Estas fueron suspendidas en medio RPMI+HEPES (Gibco®) suplementado con Suero Fetal Bovino al 5% y antibiótico-antimicótico (Gibco®). Las células fueron estimuladas con 2.5 µg/mL de concanavalina A (CoA; Sigma®) y con 2 µg/mL de ESP. Las PBMCs fueron incubadas a 37°C en una atmósfera de 5 % CO<sub>2</sub>. A las 16 y 24 h post estimulación se evaluó la expresión relativa en diferentes factores inmunes (*IL-2*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-13*, *TGFβ1*, *FCεR1A*, *β-2 microglobulina*) por Retro Transcripción y PCR en Tiempo Real (RT-qPCR). Además, a las 24 y 48 h después de la inducción de la proliferación se evaluó el porcentaje de linfocitos TCD4<sup>+</sup> por el citómetro de flujo FACS Aria II (Beckton Dickinson) adquiriendo 10,000 eventos.

### Resultados

En el presente estudio, se identificó una banda de proteínas de 70 kDa con punto isoeléctrico de ~5.7 a partir de cultivo *in vitro* de L<sub>4</sub> de *H. placei*. El nivel de expresión de PBMCs de bovino en respuesta al ESP de 70 kDa de *H. placei* a las 16 h post-activación indican sobreexpresión de *TGFβ1* y *IL-8* de 2.4 a 15.6 veces, respectivamente, con respecto al control ( $p < 0.05$ ). Mientras que el incremento de expresión ~2 por *IL-6*, *IL-13*, y *FCεR1A*, a las 24 h fue menor. Contrariamente, se detectó sub-expresión de *IL-2*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-13* y *FCεR1A*, con valor máximo de 0.5 veces en relación al control a las 16 h de incubación. Mientras que, a las 24 h, los genes *IL-2*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-8*, *IL-10* y *TGFβ1* tuvieron una expresión similar al gen constitutivo.

Por otro lado, los estudios realizados por citometría de flujo indican que el porcentaje de linfocitos TCD4<sup>+</sup> en el control sin tratamiento es de 35.03%. A las 24 h de incubación con el antígeno de ESP de 70 kDa hubo un incremento de esta población celular de un 4.43%. Mientras que a las 48 h el porcentaje disminuyó ligeramente (4.09%). Por otro lado, a las 24 h de incubación con el control positivo ConA hubo disminución del 6.95%, mientras que a las 48 h los TCD4<sup>+</sup> disminuyeron el 17.41%.

### Discusión

Los ESP son proteínas con importancia biológica que han sido exploradas en la elaboración de agentes vacunales por su participación en la interacción hospedero-parasito. El amplio estudio del perfil de proteínas del género *Haemonchus* ha permitido la identificación de diferentes productos con actividad protectora (Munn *et al.*, 1997). Pero para ello, se debe entender mejor la función biológica de éstos productos y su actividad durante la invasión a tejidos, principalmente en el primer estadio invasivo, L<sub>4</sub>.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En este trabajo, se identificó la modulación de diferentes factores inmunológicos *in vitro* activados por los ESP de *H. placei* en L<sub>4</sub>. Durante el primer periodo de evaluación, la expresión de *TGFβ1* e *IL-8* sugiere la participación de mecanismos de modulación tipo TH<sub>2</sub> asociados al daño inflamatorio (*IL-6* e *IL-13*) y activación de *FCεR1A* (Knot *et al.*, 2009). En correlación, durante las primeras h en la patogenia por los helmintos, la *IL-8* posee la capacidad quimioatrayente de múltiples promotores de la inflamación y ataque contra NGI, como lo son los neutrófilos. Además, el *TGFβ1* es una citocina con múltiples funciones regulatorias en la inflamación, adhesión, proliferación, quimiotaxis e inmunoregulación de linfocitos T y citocinas. Por otro lado, en el presente estudio el antígeno de 70 kDa de *H. placei* estimuló el aumento de los receptores de membrana TCD4<sup>+</sup>, indicándonos que posiblemente el aumento del porcentaje de este tipo de linfocitos refleja la activación de mecanismos involucrados en combatir el daño causado por este tipo de antígenos en los linfocitos de bovino. Mecanismos relacionados con la secreción de citocinas asociadas a la inflamación (*IL-6* e *IL-8*) y diferenciación de linfocitos B (*IL-13*) (Craig *et al.*, 2007). Además, la secreción de mucosidad está estrechamente ligada al incremento de la expresión de *IL-13* por células caliciformes que contribuyen a la expulsión del nematodo (Allen y Maizels, 2011).

### Conclusión

En el presente trabajo, se proporciona información de la actividad biológica de los ESP de 70 kDa *in vitro*, en la cual se ha podido resaltar la importancia del estudio de las proteínas involucradas en la interacción hospedero-parásito. De las cuales el ESP de 70 kDa estimula la respuesta inmune y factores asociados a reacciones alérgicas (*FCεR1A*) e inflamación (*IL-6*, *IL-8*, *IL-13* y *TGFβ*) causados por nematodos.

### Fuente financiadora

Este trabajo fue financiado por el proyecto CONACYT SEP 287598 con título: Caracterización Proteómica, búsqueda de péptidos bioactivos y análisis de la expresión génica a partir de productos de secreción del nematodo *Haemonchus placei*.

### Referencias bibliográficas

- Allen, J., y Maizels, R. (2011). Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nature reviews*. 375-388.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 248–254
- Craig, N., Miller, H., Smith, W., Knight, P. (2007). Cytokine expression in naïve and previously infected lambs after challenge with *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 120 (2007), 47-54.
- Halliday, M., Morrison, I., Smith, W. (2009). Kinetics of the local cellular response in the gastric lymph of immune and susceptible sheep to the infection with *Teladorsagia circumcincta*. *Parasite Immunol.* (31): 402-411.
- Knot, M., Matthaei, K., Foster, P., Dent, A. (2009). The roles of eotaxin and the STAT6 signalling pathway in eosinophil recruitment. *Molecular Immunology* (46):2714-2722.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Knox, D., Redmond, D., Newlands, G., Skuce, P., Pettit, D., Smith, W. (2003). The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids. *International Journal for Parasitology*, (33): 1129-1137.
- Munn, E., Smith, T., Smith, H., James, F., Smith, F., Andrews, S. (1997). H11, Vaccination against *Haemonchus contortus* with denatured forms of the protective antigen. *Parasite Immunology* (19): 243-248.
- Peña, M., Miller, J., Horohov, D. (2006). Effect of CD4<sup>+</sup> T lymphocyte depletion on resistance of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. *Veterinary Parasitology* (138):240–246.
- Waruiru, R., Thamsborg, S., Nansen, P., Kyvsgaard, N., Bogh, H., Munyua, W., Gathuma, J. (2001). The Epidemiology of Gastrointestinal Nematodes of Dairy Cattle in Central Kenya. *Tropical Animal Health and Production*, 173-187.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## REDUCCIÓN DE UNA POBLACIÓN DE *Haemonchus contortus* (L3) EN PASTO POR ACCIÓN DEPREDADORA DEL NEMATODO CANÍBAL *Butlerius* sp. EN MICROPARCELAS

### REDUCTION OF A *Haemonchus contortus* (L3) POPULATION IN GRASS BY THE PREDATORY ACTIVITY OF THE CANNIBAL NEMATODE *Butlerius* sp. IN MICRO-PADDOKS

Mendoza de GP\*, Aguilar ML, López AME, Olmedo JA, Cabrera OL

CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Boulevard Paseo Cuauhnahuac No. 8534,  
Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, México. CP 62556. \*pedromdgives@yahoo.com

Palabras clave: *Haemonchus*, *Butlerius*, biocontrol

#### Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad depredadora *in vitro* del nematodo depredador *Butlerius* sp., contra larvas infectantes (L3) *H. contortus* y el nematodo de vida libre *P. redivivus* utilizando un modelo de "micro parcelas" para simular las condiciones de campo. Materiales y Métodos: Se utilizaron charolas de plástico de 15 x 15 cm y una altura de 5 cm, conteniendo suelo estéril donde se sembraron 5 g de semilla del pasto Ray Grass Italiano. Después de 15 días se formaron seis series de micro parcelas (n=6) de la siguiente manera: Serie 1, ("Control *Haemonchus*"). Serie 2, ("Control *Panagrellus*") como ejemplo de un nematodo de vida libre para comparación; Serie 3, ("Control *Butlerius*"); Serie 4, ("Interacción *Haemonchus-Butlerius*"); Serie 5 ("Interacción *Butlerius-Panagrellus*") Serie 6, (*Haemonchus*-Ivermectina). Las microparcels permanecieron junto a una ventana (semi-intemperie), durante cuatro semanas y fueron hidratadas por aspersión. Posteriormente, el contenido de cada microparcela fue transferido a embudos de Baermann (de manera individual por cada microparcela) para recuperar el total de nematodos presentes en cada tratamiento. Los tubos resultantes de la prueba del Embudo de Baermann con el sedimento fueron filtrados utilizando papel para limpieza de oculares de microscopio "Lens Paper". Los nematodos recuperados fueron identificados y cuantificados y se obtuvieron los promedios de cada especie para su análisis. Resultados y Discusión: Los resultados del presente estudio muestran que la interacción entre *Butlerius* sp. y *H. contortus* produjo una reducción de la población de larvas infectantes del nematodo parásito en un 98%; mientras que, el nematodo depredador redujo un 50% la población del nematodo *P. redivivus* ( $p > 0.05$ ). Por otra parte, la Ivermectina redujo en un 94% la población de *H. contortus* utilizando un modelo de microparcels. Este estudio muestra clara evidencia del potencial del nematodo depredador de nematodos *Butlerius* sp. en contra del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## MIGRACIÓN VERTICAL DE *Haemonchus contortus* (L3) SOBRE PASTO *Pennisetum purpureum* BAJO CONDICIONES SUBTROPICALES EN MÉXICO

### VERTICAL MIGRATION OF *Haemonchus contortus* (L3) ON *Pennisetum purpureum* GRASS UNDER SUBTROPICAL CONDITIONS IN MEXICO

Millán-Orozco J<sup>1</sup>\*, Millán-Orozco J<sup>2</sup>, Mendoza de Gives P<sup>3</sup>, Valero-Coss RO<sup>3</sup>, Aguilar-Marcelino L<sup>3</sup>, Molina-Ochoa J<sup>4</sup>

<sup>1</sup> DCMV, UAAAN-UL, Torreón, Coahuila, México; <sup>2</sup> AMVEB-Laguna, Gómez Palacio, Durango, México; <sup>3</sup> CENID Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México; <sup>4</sup> FMVZ-UCol, Tecomán, Colima, México. \*E-mail: [jmillan.orozco@gmail.com](mailto:jmillan.orozco@gmail.com); [jmillan.orozco@uaaan.edu.mx](mailto:jmillan.orozco@uaaan.edu.mx)

Palabras clave: Migración vertical, *Haemonchus contortus*, *Pennisetum purpureum*.

#### Resumen

El objetivo fue evaluar el patrón de migración vertical de *Haemonchus contortus* (L3) en pasto *Pennisetum purpureum*. Se utilizaron mensualmente 12 plantas de *P. purpureum* con una altura de 30 cm y un radio de 10 cm, que fueron inoculadas con 1800 L3 de *H. contortus*. La cuantificación de la migración larvaria dio inicio veinticuatro horas post-inoculación. Entre cada planta existió una separación de 30 cm para evitar que las L3 migraran a una planta distinta a la que se inocularon. Para los muestreos, se establecieron cuatro diferentes estratos vegetales de cada planta (tierra, 0-10 cm, 10-20 cm y 20-30 cm) y cuatro horarios de muestreo (06:00, 12:00, 18:00 y 24:00 h). Los valores promedio más altos de recuperación larvaria se obtuvieron en el estrato tierra (19.1±4.0 larvas); seguido del estrato de 0-10 cm con un valor de 10.5±3.3 larvas. En contraste, los valores registrados en los estratos 10-20 cm y 20-30 cm fueron de 1.1±0.5 larvas (P<0.05). El valor máximo de recuperación larvaria en tierra fue de 31.1±10 larvas a las 12:00 h; seguido del valor registrado a las 6:00 h (20.0±7.8 larvas). Los valores observados a las 18:00 y 24:00 h fueron de 14.4±6.6 y 11.1±5.1 larvas; respectivamente. En el estrato de 0-10cm, los valores más elevados de recuperación larvaria fueron 17.7±9.8 y 10.0±6.2 larvas en los muestreos de 18:00 y 24:00 h; respectivamente. En los muestreos de las 6:00 y 12:00 h se recuperaron 8.8±4.8 y 5.5±4.5 larvas; respectivamente (P>0.05). En los estratos 10-20 y 20-30 cm en general se recuperó un promedio de 1.1±0.5 larvas en los diferentes horarios de muestreo (P>0.05). Se concluye que la mayor cantidad de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en pasto *Pennisetum purpureum* se concentran a lo largo del año en la tierra y en la parte baja de los pastos.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO *in vitro* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *Neolentinus ponderosus* SOBRE EL NEMATODO *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>)

### *In vitro* EFFECT OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF EDIBLE MUSHROOM *Neolentinus ponderosus* ON THE NEMATODE *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>)

Montañez PLF<sup>\*1,2</sup>, Téllez TM<sup>1</sup>, Aguilar ML<sup>2</sup>, Acosta OML<sup>1</sup>, Godínez DG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Unidad de Helmintología, CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México. <sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.  
aguilar.liliana@inifap.gob.mx

Palabras clave: Hongos comestibles, micoquímica, sustentabilidad.

#### Introducción

Las parasitosis gastrointestinales provocan enfermedades que conllevan a la disminución del potencial zootécnico repercutiendo en la rentabilidad de las explotaciones ganaderas (Mavrot *et al.*, 2015). Los nematodos gastrointestinales (NGI) son un grupo de parásitos que ejercen un efecto perjudicial en la salud animal y son considerados como uno de los principales grupos de parásitos que causan pérdidas económicas. Estudios realizados por Pereira *et al.* (2014), notifican pérdidas por parásitos gastrointestinales en Brasil por 7 billones de dólares; mientras que, Bulman (2012) en un estudio realizado en Argentina, reporta que las pérdidas por parásitos gastrointestinales son de 450 millones de dólares; según Almada (2015), las parasitosis producen pérdidas por 22 billones de dólares anuales en América Latina. Los signos clínicos que provocan los nematodos gastrointestinales (NGI) en los ovinos son: debilidad, diarrea, edema submaxilar, anorexia, baja conversión alimenticia, bajos índices de fertilidad y en corderos jóvenes, la muerte. Los nematodos de la familia Trichostrongylidae son los principales causantes de las parasitosis en los rumiantes. Este grupo incluye al género *Haemonchus* (Zarlenga *et al.*, 2016). El nematodo *H. contortus* se encuentra en el abomaso de los ovinos y es considerado como el NGI con mayor prevalencia nacional 37% (González-Garduño *et al.*, 2011; López *et al.*, 2013); en Uruguay 35% (Castells *et al.*, 2013) causando haemonchosis ovina (Besier *et al.*, 2016). El uso frecuente de productos químicos como lactonas macrocíclicas ha provocado el problema de la resistencia antihelmíntica y es considerado como un riesgo ecotoxicológico al suelo, los mantos acuíferos y organismos benéficos como los escarabajos estercoleros. En este contexto, es evidente la búsqueda de métodos alternos y sostenibles complementarios que reduzcan la necesidad del uso de los productos de origen químico. El uso de hongos comestibles es considerado como una tradición medicinal, debido a sus efectos curativos a través de metabolitos secundarios con propiedades terapéuticas. A la fecha se han aislado metabolitos y componentes con actividad nematocida del hongo *Pleurotus* spp. como: alcaloides, quinonas, péptidos, polifenoles (Li y Zhang, 2014), cuatro ácidos grasos: (1) pentadecanoico, (2) hexadecanoico, (3) octadecadienoico, (4) ácido octadecanoico y terpenos ( $\beta$ -sitosterol) (Pineda-Alegría *et al.*, 2017). Los basidiomicetos producen una amplia gama de productos naturales que abarcan propiedades antiparasitarias (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017). El hongo comestible *N. ponderosus* es originario del Estado de Morelos y presenta potencial para su cultivo



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

(Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017). Adicionalmente posee un valor nutricional de vitaminas y minerales, así como otros componentes como los aminoácidos y los polisacáridos, por su similitud con el hongo *N. lepidus* que pertenece al mismo género se han determinado compuestos como: policétidos, 5-metoxiisobenzofuran-4,7 (1H, 3H)-dioneona estos componentes han mostrado la inhibición del óxido nítrico (Yang *et al.*, 2017) y del 1,3-dihidroisobenzofuran-4,6-diol (Yang *et al.*, 2017), adicionalmente un derivado de la benzoquinona (Yang *et al.*, 2017) que se le ha atribuido actividad antioxidante (Li *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2017), por lo antes mencionado *N. ponderosus* es un hongo con una importante alternativa nutraceutica (Leonowicz *et al.*, 1999; Lodge *et al.*, 2004).

### Objetivo

Evaluar el efecto *in vitro* del extracto hidroalcohólico del micelio del hongo *N. ponderosus* contra el nematodo *H. contortus* (L<sub>3</sub>).

### Material y métodos

#### Material biológico

##### Aislamiento e identificación de *N. ponderosus*

La recolección del hongo se realizó en la comunidad de San Juan Tlacotenco que se encuentra ubicado en la parte norte del Estado de Morelos, es una comunidad de origen indígena que pertenece al municipio de Tepoztlán, colinda con los Municipios de Huitzilac, Cuernavaca, Jiutepec, Yautepec, Tlayacapan, Tlalnepantla y con la comunidad de Milpa Alta perteneciente a la Ciudad de México (Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017). La cepa fue aislada, identificada y proporcionada por el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) (Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017).

##### Cultivo de *N. ponderosus*

El cultivo líquido se elaboró con la siguiente composición en g/L: Dextrosa 20 g, infusión de papa de 200 g (4 g), se realizó por triplicado en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio líquido. Se inocularon con tres lunetas (6 mm) de fragmentos de micelio a partir del micelio crecido previamente en medio en agar dextrosa papa. Posteriormente se incubó a 25°C con agitación orbital a 120 rpm. Se inocularon los matraces durante siete días.

##### Preparación del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus*

El material micológico se filtró y se guardó en el ultracongelador a -80°C durante 24 h y posteriormente la muestra se llevó a una liofilizadora para secado total al alto vacío y se puso en un matraz Erlenmeyer de 1 L conteniendo el disolvente hidroalcohólico al 70% etanol-agua. La solución hidroalcohólica cubrió todo el material en una proporción 3:1, dejando en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. La muestra se llevó a concentrar utilizando un rotaevaporador. El extracto se secó al alto vacío, utilizando un liofilizadora y se cuantificó el peso en una balanza analítica para obtener el rendimiento (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

##### Obtención de larvas infectantes de *H. contortus* (L<sub>3</sub>)

Las muestras fueron procesadas para la obtención de L<sub>3</sub> en cultivos a partir de heces positivas, siguiendo la metodología citada por (Liébano-Hernández *et al.*, 2011). Después de seis días de incubación se obtuvieron las L<sub>3</sub>, mediante la técnica del embudo de Baermann por 12 h. La



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

eliminación de la vaina se realizó con hipoclorito de sodio al 0.187% durante 10 min de exposición. Posteriormente se llevaron a cabo cuatro lavados con agua destilada por centrifugación durante 1 min a 3500 rpm para eliminar el hipoclorito de sodio.

### Bioensayo

La evaluación *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus* contra larvas infectantes (L3) de *H. contortus* se llevó a cabo en placas de microtitulación de 96 pozos. En cada pozo se colocaron 50  $\mu$ L de agua destilada y 100 larvas infectantes de *H. contortus* (L<sub>3</sub>) sin vaina en un volumen de 100  $\mu$ L. Las concentraciones de los diferentes tratamientos fueron: 0.2, 0.4, 0.5, 1.7, 1, 2 y 3.4 mg/mL del extracto hidroalcohólico. Se utilizó un grupo testigo con un antihelmíntico comercial (ivermectina 5 mg/mL) y otro grupo testigo (agua destilada). Las lecturas de las larvas se evaluaron a las 72 h postconfrontación. La obtención del porcentaje de mortalidad de larvas se obtuvo mediante la fórmula: promedio del grupo testigo-promedio del grupo tratado/ promedio del grupo testigo\*100. Los datos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar en el programa estadístico SAS (V9), posteriormente se determinó la concentración letal media mediante un análisis Probit (CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>) (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

### Resultados y discusión

Los resultados del presente estudio se muestran en el cuadro 1, el mayor porcentaje de mortalidad (97%) se obtuvo a una concentración de 3.4 mg/mL de extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* y una CL<sub>50</sub> de 0.55 mg/mL y la CL<sub>90</sub> de 2 mg/mL.

Cuadro 1. Evaluación *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus* contra larvas infectantes (L3) de *H. contortus* a 72 h postconfrontación.

Tratamiento	Concentración mg/mL	$\bar{x} \pm DE$	Mortalidad (%)
Agua destilada	-----	0 $\pm$ 0	0.00f
Ivermectina	5	100 $\pm$ 0	100a
	0.0	0 $\pm$ 0	0.00f
	0.2	0 $\pm$ 0	0.00f
Extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinulus ponderosus</i>	0.2	15 $\pm$ 1	14.91e
	0.4	17 $\pm$ 2.9	17.42e
	0.5	67 $\pm$ 22	66.69d
	1.7	80 $\pm$ 4	79.96d
	1.0	85 $\pm$ 4	85.09c
	2.0	93 $\pm$ 1	93.04b
	3.4	97 $\pm$ 1	97.02b

$\bar{x}$ = Promedio, DE= Desviación estándar, n=4, p $\leq$ 0.05. Letras iguales indican que los valores no difieren estadísticamente, según prueba de Tukey.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Los hongos poseen una gran capacidad para producir diversos productos, entre ellos metabolitos secundarios con propiedades medicinales y terapéuticas. Entre las diferentes propiedades destacan su uso como: anti-inflamatorios, inmuno-moduladores, anti-hipertensivos, cardiotónicos, anti-virales, citostáticos, anti-microbianos, anti-tumorales, anti-cancerígenos, anti-oxidantes, insecticidas y antiparasitarios (nematicidas) (Pineda-Alegría *et al.*, 2017; Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017). Actualmente se ha notificado algunos compuestos del hongo comestible que pertenecen al mismo género como *N. lepideus* que tiene efecto antioxidante y de inhibición del óxido nítrico (Yang *et al.*, 2017); sin embargo, en México hasta ahora es nula la información que existe acerca de compuestos de *N. ponderosus* con actividad nematicida contra nematodos de importancia pecuaria. A futuro es importante continuar con el estudio del hongo *N. ponderosus* y la elucidación de las moléculas bioactivas responsables de la actividad contra el nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.

### Conclusión

En el presente estudio se evaluó *in vitro* el extracto hidroalcohólico del hongo comestible *N. ponderosus* contra larvas infectantes (L3) de *H. contortus* a 72 h postconfrontación, el mayor porcentaje de mortalidad (97%) se obtuvo a una concentración de 3.4 mg/mL de extracto hidroalcohólico y una CL<sub>50</sub> de 0.55 mg/mL, CL<sub>90</sub> de 2 mg/mL.

### Fuente financiadora

El presente estudio fue financiado parcialmente con el Proyecto Fiscal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias del INIFAP con número: 834432984.

### Referencias bibliográficas

- Aguilar-Marcelino, L., Mendoza de Gives, P., Torres Hernández, G., López, Arellano M.E., Becerril, Pérez, C.M., Orihuela, Trujillo, A., Torres, Acosta, J. F., Olmedo, Juárez, A. 2017. Consumption of nutritional pellets with *Duddingtonia flagrans* fungal chlamydo spores reduces infective nematode larvae of *Haemonchus contortus* in faeces of Saint Croix lambs. *Journal of Helminthology*. 91: 665-671.
- Almada, A. 2015. Parasitosis: Pérdidas Productivas e impacto económico. *Revista Veterinaria Argentina*, 5390. Retrieved from <http://www.veterinariargentina.com/revista/2015/08/parasitosis-perdidasproductivas-e-impacto-economico/>
- Bulman, M. 2012. Perdidas económicas directas e indirectas por parásitos internos y externos de los animales domésticos en Argentina. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*. Argentina. Tomo 66, pp. 76-175.
- González-Garduño, R., Cordova, P.C., Torres, H.G., Mendoza de Gives, P., Arece, G.J. 2011. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Revista Veterinaria México*. 42: 125-135.
- Li, H. G., Zhang, K. 2014. Nematode-toxic and their nematicide metabolites. *In*: Zhang, K., Hyde, K.D. (eds) *Nematode-Trapping Fungi: Fungal Diversity Research*. Mushroom Foundation. Yunnan, China. 23: 313-375.
- Mavrot-F., Hertzberg, H., Torgerson., P. 2015. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*. 8: 557. DOI: 10.1186/s13071-015-1164-z



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Pereira, J. B., Martins, J. R. de S., Andreotti, R., León, A. A. P. de, Cançado, P. H. D., Grisi, L., Leite, R. C. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria*. 23:150-156.
- Pineda-Alegría, J. A., Sánchez-Vázquez, J. E., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Cuevas-Padilla, E.J., Aguilar-Marcelino, L. 2017. The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food*. 20: 1184-1192.
- Zarlenga- D.S, Hoberg E. P, Tuo, W. 2016. The identification of *Haemonchus* species and diagnosis of haemonchosis. *Boock Advances in Parasitology*. 93(5): 145-180.
- Zuluaga-Jiménez, F., Díaz, Godínez, G., Acosta Urdapilleta, Ma. de L., Téllez, Téllez, M. 2017. Aislamiento y caracterización *in vitro* del hongo comestible Cojcomon (*Neolentinus ponderosus*). *Aportaciones a las Ciencias Alimentarias*. Tabasco. México. Primera edición. Capítulo 4. pp. 26-31.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO *in vivo* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *Neolentinus ponderosus* SOBRE EL NEMATODO *Haemonchus contortus* (L3)

### *In vivo* EFFECT OF THE HYDRO-ALCOHOLIC EXTRACT OF THE EDIBLE MUSHROOM *Neolentinus ponderosus* ON THE *Haemonchus contortus* (L<sub>3</sub>) NEMATODE

Montañez PLF<sup>1,2</sup>, Téllez TM<sup>1</sup>, Aguilar ML<sup>2</sup>, Acosta OMadeL<sup>1</sup>, López AME<sup>2</sup>, Godínez DG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Unidad de Helmintología, CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México. <sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.  
aguilar.liliana@inifap.gob.mx

Palabras clave: Micoquímica, metabolitos, hongos funcionales y nutraceuticos.

#### Introducción

Las parasitosis gastroentéricas en ovinos ocasionan grandes pérdidas económicas y en algunos casos incluye la muerte de los animales jóvenes, esta enfermedad se manifiesta clínicamente por diarreas persistentes, anemia y desnutrición, dando como resultado retraso en el crecimiento de los animales jóvenes, así como baja producción de carne (Hamito, 2011). Los nematodos gastrointestinales (NGI) tienen afinidad por determinadas porciones del tracto digestivo, principalmente por el abomaso como lo hace *Haemonchus contortus*. La hemoncosis se presenta con frecuencia en regiones que por su altitud, temperatura, pluviosidad y humedad les proporciona las condiciones favorables para el desarrollo de los NGI. El ciclo biológico de estos parásitos es directo y la infección de los rumiantes se lleva a cabo mediante la ingestión de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) (Paddock, 2011). El uso excesivo y frecuente de antihelmínticos es considerado como un riesgo ecotoxicológico al suelo y los mantos acuíferos. En este contexto, es evidente la búsqueda de métodos sostenibles que reduzcan la necesidad del uso de los productos de origen químico. Una alternativa potencial es el uso de los hongos comestibles que poseen propiedades nutraceuticas además por sus propiedades antiparasitarias (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017).

#### Objetivo

Evaluar el efecto *in vivo* del extracto hidroalcohólico del micelio del hongo *N. ponderosus* contra el nematodo *H. contortus* usando como modelo experimental al jerbo (*Meriones unguiculatus*).

#### Material y métodos

##### Material biológico

Aislamiento e identificación de *N. ponderosus*

La colecta del hongo se realizó en la comunidad de San Juan Tlacotenco que se encuentra ubicado en la parte norte del Estado de Morelos, Municipio de Tepoztlán (Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017). La cepa fue aislada, identificada y proporcionada por el CIB-UAEM.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Cultivo de *N. ponderosus*

La composición del cultivo líquido fue en g/L: Dextrosa 20 g, infusión de papa de 200 g (4 g), se realizó en matraces Erlenmeyer con 100 mL de medio. Se inocularon con tres lunetas (6 mm) del micelio a partir de material micológico crecido en agar dextrosa papa. Posteriormente se incubó a 25°C con agitación orbital a 120 rpm durante 14 días.

### Preparación del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus*

El material micológico fue filtrado, congelado a -80°C durante 24 h y posteriormente la muestra se liofilizó para el secado total; se realizó el extracto hidroalcohólico al 70% etanol-agua, en una proporción 3:1, dejando en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. La muestra se concentró utilizando un rotaevaporador., posteriormente el extracto se secó al alto vacío, utilizando un liofilizadora y se cuantificó el peso en una balanza analítica (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

### Recuperación de larvas infectantes de *H. contortus* (L<sub>3</sub>)

La obtención de larvas infectantes de *H. contortus* (L<sub>3</sub>) se realizó mediante un proceso de recuperación a un ovino donador infectado experimentalmente (Liébano-Hernández *et al.*, 2011), propiedad del CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP. Mediante la colecta de heces frescas de un día al ovino infectado, se realizó la incubación de los huevos hasta el estadio L<sub>3</sub> por el método de coprocultivo. Las larvas obtenidas se sometieron por el método de Baerman por 12 h. Una vez sedimentadas las larvas se colectaron y se llevó a cabo la limpieza con el método de gradiente de densidad con sacarosa. La eliminación de la vaina se realizó con hipoclorito de sodio al 0.187% durante 10 min de exposición.

### Obtención colonia de jerbos (*Meriones unguiculatus*)

Se adquirió un lote de jerbos (*M. unguiculatus*) (24 animales) con un proveedor comercial y se alojaron en grupos de seis jerbos. La colonia de este roedor miomorfo pertenecen a la Unidad de Helmintología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria del (CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD), INIFAP.

### Desparasitación, inmunosupresión e infección de jerbos

Los jerbos se desparasitaron con fenbendazole al 10% e inmunosuprimieron con Dexametasona a 5mg/mL por tres días con el objetivo de permitir un mejor establecimiento de la infección. La infección se realizó con 10,000 larvas sin vaina de *H. contortus*, vía oral/jerbo (Medina-Huicochea, 2018).

### Diseño experimental

Se conformaron aleatoriamente cuatro grupos de jerbos de seis animales cada uno. Los animales de la primera serie fungieron como el grupo testigo (agua destilada), la segunda serie (grupo testigo, antihelmíntico comercial: Fenbendazol 20mg/kg), la serie tres (grupo tratado, dosis alta 0.010mg/kg) y la serie cuatro (grupo tratado, dosis baja 0.005 mg/kg), vía oral/jerbo (Medina-Huicochea, 2018).

Sacrificio de jerbos, búsqueda y cuantificación de estadios endoparásitos de *H. contortus* en estómago y mucosa.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

El sacrificio de jerbos se realizó cinco días post-tratamiento, por el método de sobredosis de anestesia. El estómago fue extraído de la cavidad abdominal colocándolo en una placa de Petri con la solución buffer salina (PBS) para colectar las larvas vivas y muertas.

### Análisis estadístico

Se obtuvo el promedio de nematodos por cada grupo y se estimó el porcentaje de reducción de la población de nematodos respecto al grupo testigo utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\square \text{ testigo} - \square \text{ tratado}}{\square \text{ testigo}} \times 100$$

(Medina-Huicochea, 2018).

Los datos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar en el programa estadístico SAS (V9), posteriormente se determinó la dosis letal media mediante un análisis Probit (CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>), Pineda-Alegría *et al.*, 2017.

### Resultados y discusión

Los resultados del presente estudio se muestran en el cuadro 1, el mayor porcentaje de mortalidad (89%) se obtuvo con una dosis de 0.005 mg/mL de EHNP.

Cuadro 1. Evaluación del efecto *in vivo* del EHPN contra *H. contortus* usando como modelo experimental al jerbo a los cinco días post-infección.

Tratamiento ( dosis mg/kg pv)	Larvas recuperadas	$\bar{x} \pm DE$	Mortalidad (%)
Agua destilada	387	32.2 ± 7.09	0d
Fenbendazol (20)	24	2.1 ± 4.03	93.48a
EHPN (0.010)	288	24 ± 26.88	25.88c
EHPN (0.005)	40	3.3 ± 4.45	89.66b

$\bar{x}$ = Promedio, DE= Desviación estándar, n=4, p≤0.05. Letras iguales indican que los valores no difieren estadísticamente, según prueba de Tukey.

Actualmente a nivel mundial y nacional existe la demanda de seguridad alimentaria en productos de origen animal cuidando la inocuidad de estos. Adicionalmente existe un mayor interés por la sostenibilidad de los recursos naturales. Por tal motivo es necesario y urgente implementar nuevas y diferentes alternativas de control sustentables. En la búsqueda de nuevas alternativas para el control de los NGI se ha notificado que los hongos comestibles del género *Pleurotus* spp. presentan propiedades medicinales y terapéuticas destacando la antiparasitaria (nematicida). En diversos estudios han utilizado al jerbo como un modelo de estudio para evaluar la actividad antihelmíntica, ya que es un huésped errático y se establece la infección del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*, las ventajas que presentan son en el aspecto económico y fácil manejo. Para la estandarización del experimento se tomaron en cuenta diversos trabajos similares con jerbos infectados artificialmente con *H. contortus* (Huicochea-Medina, 2018; Villareal- Guevara, 2018). Los resultados obtenidos del presente estudio contribuyen a confirmar la actividad antihelmíntica del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus*, estos resultados podrían ser la base para el uso de extractos hidroalcohólicos a partir de macromicetos como los hongos comestibles para controlar las parasitosis causadas por NGI en ovinos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Conclusión

El EHNP mostró una mortalidad de larvas del 25.88% a una dosis alta y a una dosis baja de 89.66% a los cinco días post-infección de los jerbos. El EHNP posee metabolitos con actividad antihelmíntica y a futuro se debe realizar un estudio micoquímico para elucidar los componentes bioactivos.

Fuente financiadora

El presente estudio fue financiado parcialmente con el Proyecto Fiscal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias del INIFAP con número: 834432984.

### Referencias bibliográficas

- De Jesús-Gabino, A.F., Mendoza de Gives, P., Salinas- Sánchez, D.O., López- Arellano, M.E., Liébano- Hernández, E., Hernández- Velázquez, V.M., Valladares- Cisneros, G. 2010. Anthelmintic effects of *Prosopis laevigata* n-hexanic extract against *Haemonchus contortus* in artificially infected gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Helminthology*. 84: 71-75.
- Li, H. G., Zhang, K. 2014. Nematode-toxic and their nematicide metabolites. *In: Zhang, K., Hyde, K.D. (eds) Nematode-Trapping Fungi: Fungal Diversity Research*. Mushroom Foundation. Yunnan, China. 23: 313-375.
- Liébano- Hernández, E., López-Arellano, M.E., Mendoza de Gives, P., Aguilar- Marcelino, L. 2011. Manual de Diagnóstico para la identificación de larvas de nematodos gastrointestinales en rumiantes. Publicación No. 2. pp.17-34.
- Pineda- Alegría, J. A., Sánchez- Vázquez, J. E., González- Cortazar, M., Zamilpa, A., López- Arellano, M. E., Cuevas- Padilla, E. J., Aguilar- Marcelino, L. 2017. The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food*. 20: 1184-1192.
- Yan-Long Yang, Qiao-Qiao Tao, Jun-Jie Han, Li Bao, and Hong-Wei Liu. 2017. Recent advance on bioactive, Compounds from the edible and medicinal fungi in China. State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China. 255-303.
- Zuluaga- Jiménez, F., Díaz- Godínez, G., Acosta -Urdapilleta, Ma. de L., Téllez- Téllez, M. 2017. Aislamiento y caracterización *In vitro* del hongo comestible Cojcomon (*Neolentinus ponderosus*). Aportaciones a las Ciencias Alimentarias. Tabasco. México. Primera edición. Capítulo 4. pp. 26-31.
- Villareal- Guevara, A, R. 2018. Evaluación *in vitro* e *in vivo* de un ácido graso comercial contra huevos y larvas (L<sub>3</sub>) de *Haemonchus contortus*. Tesis para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Morelos. México. 61-66.
- Li Y, Bao L, Song B, Han J, Li H, Zhao F, Liu H .2013. A new benzoquinone and a new benzofuran from the edible mushroom *Neolentinus lepideus* and their inhibitory activity in NO production inhibition assay. *Food Chemistry*. 141: 1614-1618.
- Huicochea-Medina, M. 2018. Actividad de la fracción C y R2 de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *P. djamor* contra *Haemonchus contortus* utilizando jerbos (*Meriones unguiculatus*) como modelo de estudio. Tesis para obtener el grado de Maestra en ciencias. 8-120.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE TRES DOSIS INFECTIVAS SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE *Taenia hydatigena* EN PERROS

### EVALUATION OF THREE INFECTIVE DOSE ON THE ESTABLISHMENT OF *Taenia hydatigena* IN DOGS

Muñoz GMA\*, Jimarez VG, Cuenca VC, Buendía JJA, Alba HF

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. mmunoz74@hotmail.com

Palabras clave: *Taenia hydatigena*, perros, infección experimental, prepatencia

#### Introducción

*Taenia hydatigena* tiene como hospedador definitivo al perro doméstico, otros cánidos silvestres y osos, los hospedadores intermediarios más importantes son los rumiantes (Nourani et al., 2010). En unidades de producción ovinas en pastoreo, la presencia de perros es frecuentemente indispensable y comúnmente podría encontrarse un ciclo doméstico de *T. hydatigena* entre los perros y los ovinos de la unidad. Los perros se infectan cuando ingieren tejidos de ovinos que contienen fases larvianas (metacestodos), las cuales se desarrollan a tenías adultas en su intestino delgado (Taylor et al., 2016). Existen algunos estudios que evalúan la infección por *T. hydatigena* en perros (Featherston, 1969; Coman and Rickard, 1975; Gemmell et al., 1987). Coman and Rickard (1975), lograron la infección de cinco perros con una carga infectiva de 8-10 metacestodos de *T. hydatigena* logrando recuperar un total de 29 gusanos adultos de todos los perros. Más recientemente Kanchev (2015), infectó un perro con 5 metacestodos y otro con 14 metacestodos de *T. hydatigena* y observó diferencias en los periodos de prepatencia y en el número de cestodos adultos obtenidos de cada perro. Hasta el momento, las observaciones anteriores han sido aisladas y no se ha evaluado en forma experimental el efecto de diferentes cargas infectivas por metacestodos de *T. hydatigena* sobre el establecimiento del parásito. El propósito del presente estudio fue comparar el efecto de diferentes cargas infectivas (3, 6 y 12 metacestodos) sobre el porcentaje de infección y parámetros parasitológicos de las fases adultas del parásito desarrolladas en perros.

#### Materiales y métodos

Lugar de realización. - El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de parásitos de la unidad de investigación multidisciplinaria (UIM), y en las instalaciones de la unidad de posgrado de la facultad de estudios superiores Cuautitlán, UNAM.

Animales experimentales. - Se utilizaron nueve perros criollos machos de talla mediana, pelo corto, de una edad promedio de dos meses y medio a tres meses, procedentes de camadas obtenidas por donativos voluntarios y criados en las instalaciones de la unidad de posgrado. Los perros fueron desparasitados con 15 mg/kg de pamoato de pirantel y 15 mg/kg de oxantel e inmunizados con una vacuna comercial séxtuple. Durante toda la fase experimental los perros fueron albergados en grupos de tres perros en jaulas de 4 x 4 m y con piso de cemento, mantenidos con alimento comercial (Dog Chow 16% p.c.) a razón del 4% del peso vivo, agua *ad libitum* y un ambiente enriquecido con juguetes.

Obtención de metacestodos. - Se recolectaron metacestodos de *T. hydatigena* de ovinos sacrificados en rastros aledaños a la zona de Cuautitlán y Tlalnepantla, inmediatamente después de la colecta



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

los metacestodos fueron transportados al laboratorio para su identificación, verificación de su integridad y viabilidad antes de ser suministrados a los animales experimentales.

**Diseño experimental.** - Se formaron tres grupos de perros ( $n=3$ ) a los cuales se les administraron 3, 6 y 12 metacestodos respectivamente. Semanalmente a partir de la infección, se les tomó muestras de la zona perianal con cinta adhesiva (técnica de Graham), muestras de materia fecal y muestras de sangre. Se realizó la búsqueda de huevos o proglótidos en las muestras perianales y heces y el conteo de eosinófilos sanguíneos (ES). Cuando se evidenció la presencia de infección (huevos o proglótidos en heces) en cada perro se programó la eutanasia para obtener el número de gusanos adultos desarrollados y su medida en centímetros. Se calculó el porcentaje de infección ( $\text{No. perros con fases adultas} / \text{total de perros} \times 100$ ) y el porcentaje de establecimiento de cestodos intestinales ( $\text{No. de fases adultas recuperadas} / \text{No. total de metacestodos administrados} \times 100$ ) de cada grupo.

**Pruebas parasitológicas.** - La búsqueda de huevos en materia fecal en los perros se realizó por la técnica de flotación de Faust y para la búsqueda de huevos en adheridos en la región perianal se utilizó la técnica de Graham (Taylor et al., 2016). El periodo de prepatencia se estableció cuando se detectó la presencia de huevos o proglótidos en las heces de cada animal experimental.

**Conteo de ES.** - Para el conteo de ES se utilizó sangre fresca en relación de 1:10 con solución de Carpentier (eosina Y al 1% y 40% de formaldehído), se homogenizó con pipeta de Thoma por 3 minutos y posteriormente la mezcla se dejó reposar 15 minutos antes del conteo en Cámara de Neubauer. Los resultados fueron expresados como el número de ES por  $\text{mm}^3$  (Hohenhaus et al., 1998).

**Estadística.** - Los porcentajes de infección y de establecimiento de cestodos en el intestino fueron analizados en tablas de contingencia con la prueba de  $\chi^2$ -cuadrada. Los datos de número de ES, número de días de prepatencia y del tamaño de los cestodos adultos en los diferentes grupos fueron analizados por ANDEVA de una vía y las diferencias entre medias fueron obtenidas por diferencia mínima significativa. En todas las pruebas se tomó un nivel mínimo de confianza del 95%.

Resultados y discusión



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En el cuadro 1 se muestran los datos de la infección por *T. hydatigena* en los perros experimentales y de los cestodos recuperados al sacrificio. Los perros de los tres grupos experimentales (9/9) mostraron evidencia de infección en la materia feca (huevos o proglótidos), sin embargo al momento del sacrificio no en todos los perros se encontraron fases adultas intestinales, siendo el porcentaje de infección iguales al 33% (1/3) para los grupos 1 y 2 y del 100% (3/3) para el grupo 3 al momento del sacrificio ( $p < 0.05$ ). Estas observaciones indican que, aunque se estableció la infección en los otros perros (4/9) hubo eliminación espontánea de las fases adultas intestinales en un periodo relativamente corto, posiblemente debido a mecanismos inmunomediados.

Cuadro 1. Prepatencia, establecimiento y tamaño de cestodos intestinales recuperados de perros inoculados con tres diferentes cargas infectivas de metacestodos de *Taenia hydatigena*.

GRUPO	Identif.	No. DE METACESTODOS INOCULADOS	PREPATENCIA <sup>1</sup> (DIAS)		No. ADULTOS EN INTESTINO	ESTABLECIMIENTO <sup>2</sup> (%)	TAMAÑO PROMEDIO DE LOS CESTODOS <sup>1</sup> (cm)
			HUEVOS EN HECES	PROGLÓTIDOS EN HECES			
1	1	3	54	n.o.	3	100	145 ±13 <sup>a</sup>
	2	3	53	53	0	0	---
	3	3	55	n.o.	0	0	---
			$\bar{X} = 54 \pm 1^a$		$\bar{X} = 33.3^a$		
2	4	6	32	n.o.	6	100	128 ±33 <sup>a</sup>
	5	6	n.o.	79	0	0	---
	6	6	n.o.	59	0	0	---
			$\bar{X} = 56 \pm 19^{ab}$		$\bar{X} = 33.3^a$		
3	7	12	n.o.	88	10	83.33	138 ±37 <sup>a</sup>
	8	12	n.o.	67	4	33.33	117 ±14 <sup>a</sup>
	9	12	n.o.	66	12	100	137 ±17 <sup>a</sup>
			$\bar{X} = 74 \pm 12^b$		$\bar{X} = 72.2^b$		

Letras diferentes indican diferencia significativa entre las medias ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup> ANOVA de una vía.

<sup>2</sup> Prueba  $\chi^2$ -Cuadrada.

n.o. = estructura no observada.

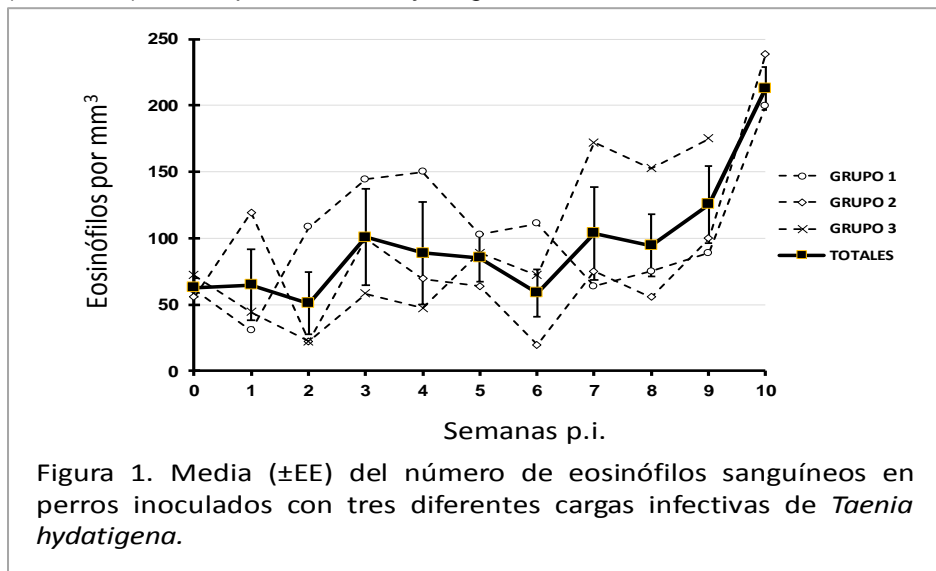
El porcentaje de establecimiento de cestodos adultos fue mayor ( $p < 0.05$ ) en los perros del grupo 3 con respecto a los otros dos grupos. El hecho de que el grupo inoculado con la mayor carga infectiva mostrara el mayor porcentaje de infección y el mayor porcentaje de establecimiento de fases adultas sugiere que la presencia de varios cestodos intestinales mantiene en forma más exitosa la infección, posiblemente en esto puedan estar involucrados fenómenos de inmunomodulación que han sido observados en otros cestodos como *T. crassiceps* y *T. solium*.

Kanchev (2015), reportó periodos de prepatencia de 47 y 69 días en dos perros infectados con 5 y 14 metacestodos de *T. hydatigena* respectivamente, sin embargo, por tratarse de observaciones individuales, estos datos carecen de sustento estadístico. En el presente estudio, el periodo de prepatencia varió entre los 32 a los 88 días y se observó un mayor ( $p < 0.05$ ) número de días de prepatencia en los perros que fueron infectados con 12 metacestodos ( $74 \pm 12$  días) en comparación a los que fueron infectados sólo con tres metacestodos ( $51 \pm 1$  días). Lo anterior sugiere que *T. hydatigena* requiere mayor tiempo para su desarrollo y establecimiento en un microambiente con mayor competencia.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

El tamaño de algunos parásitos puede variar en función al número establecido en el intestino. En el presente estudio el tamaño promedio general de los cestodos encontrados fue de  $134 \pm 27$  cm. Se observó numéricamente un mayor tamaño de los cestodos recuperados en el intestino de un perro inoculado con tres metacestodos en comparación a los recuperados de tres perros infectados con 12 metacestodos, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ( $p > 0.05$ ) por lo que aparentemente el tamaño de los cestodos no fue afectado en función a un microambiente de mayor competencia. Por otra parte, en dos de los perros del grupo tres se encontraron 10 y 12 cestodos adultos respectivamente de tamaño y características muy similares entre ellos, aun con esta alta carga parasitaria, no se observaron alteraciones en el comportamiento o estado de salud de estos perros en particular, lo que parece indicar una baja virulencia asociada a la presencia de cestodos adultos en el intestino de su hospedero definitivo. Esto ha sido observado en otros cestodos intestinales como *T. solium* o *T. saginata* aunque en estos parásitos, la carga parasitaria siempre es muy baja (uno o dos) en comparación a *T. hydatigena*.



En los tres grupos experimentales se observó un aumento ( $p < 0.05$ ), de sus niveles de ES en la semana 10 con respecto al momento de la infección (semana 0), no se observaron diferencias entre los promedios de ES de los perros infectados de los diferentes grupos (figura 1). Lo anterior confirma el establecimiento de la infección por *T. hydatigena* en los perros e indica fenómenos de respuesta innata que pudieron contribuir en la eliminación espontánea de los cestodos intestinales en algunos perros. Los huevos encontrados en la materia fecal se observaron sólo por la técnica de Faust, la técnica de Graham, aunque está indicada para el diagnóstico de otras teniosis, no fue eficaz para la demostración de la infección por *T. hydatigena* en los perros experimentales.

### Conclusiones

En todos los perros inoculados con metacestodos de *T. hydatigena* se observó evidencia de infección en la materia fecal, sin embargo, el porcentaje de infección y el establecimiento del parásito fue mayor en los perros inoculados con la mayor carga infectiva. El mayor porcentaje de infección, el mayor porcentaje de establecimiento de fases adultas y un periodo más largo de prepatencia observados en el grupo 3, sugiere que la presencia de varios cestodos intestinales mantiene en



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

forma más exitosa la infección, posiblemente a través de mecanismos de inmunomodulación. El aumento de ES en los perros infectados de los tres grupos confirmó la infección y probablemente fue un factor que pudo contribuir a la eliminación espontánea de los cestodos adultos observada en algunos perros.

Agradecimientos

Financiado por PAPIIT-UNAM IN-218018.

Referencias bibliográficas

- Coman, B.J., Rickard, M.D. 1975. The location of *Taenia pisiformis*, *Taenia ovis* and *Taenia hydatigena* in the gut of the dog and its effect on net environmental contamination with ova. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 47, 237-248.
- Gemmell, M.A., Lawson, J.R., Roberts, M.G. 1987. Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis: evaluation of the biological parameters of *Taenia hydatigena* and *T. ovis* and comparison with those of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 94, 161-180.
- Hohenhaus, M.A., Josey, M.J., Dobson, C., Outteridge, P.M. 1998. The eosinophil leucocyte, a phenotypic marker of resistance to nematode parasites, is associated with calm behaviour in sheep. *Immunology and cell biology*, 76, 153-158.
- Kanchev, K. 2015. On *Taenia hydatigena* (pallas, 1766) biological characteristics, important for the tenuicol cysticercosis epizootology. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21,1080-1085.
- Nourani, H., Pirali Kheirabadi, K.H., Rajabi, H., Banitalebi, A. 2010. Research note an unusual migration of *Taenia hydatigena* larval in a lamb. *Trop Biomed*, 27, 651-656.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall R.L. 2016. *Veterinary parasitology* Fourth edition Wiley Blackwell, Chichester, West Sussex, UK.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA *in vitro* DE FILTRADOS LÍQUIDOS DE CULTIVO Y EXTRACTOS ORGÁNICOS DE MICELIO DE HONGOS NEMATÓFAGOS CONTRA *Haemonchus contortus*

### *In vitro* ANTHELMINTIC ACTIVITY OF NEMATOPHAGOUS FUNGI CULTURE FILTRATES AND ORGANIC EXTRACTS AGAINST *Haemonchus contortus*

Ocampo GAY<sup>1,2</sup>, Mendoza de GP<sup>2\*</sup>, Aguilar ML<sup>2</sup>, López AME<sup>2</sup>, González CM<sup>3</sup>, Hernández VVM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos CEIB-UAEM Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. C. P. 62209; <sup>2</sup>CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Boulevard Paseo Cuauhnahuac No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, México. CP 62556; <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica del Sur-IMSS, Argentina 1, Col. Centro, Xochitepec, Morelos, México CP 62790.

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, Hongos nematófagos, Actividad nematicida

#### Resumen

Objetivo: Evaluar el efecto nematicida *in vitro* de filtrados de cultivos líquidos y de extractos de micelio de hongos nematófagos pertenecientes a la colección del CENID-SAI. Materiales y métodos: La actividad de los líquidos y extractos se evaluó mediante ensayos biodirigidos *in vitro* en placas de microtitulación. El criterio de evaluación de la actividad nematicida de los compuestos obtenidos se consideró siguiendo la fórmula de Abbot. Para seleccionar las cepas productoras de compuestos antihelmínticos contra *H. contortus*, se realizó una prueba de tamizaje de 21 cepas de hongos nematófagos encontrando actividad antihelmíntica en al menos 7 cepas, estas se identificaron mediante morfología tradicional y se identificaron molecularmente empleando las secuencias de las regiones interespaadoras de DNA ribosomal ITS1. 5.8S e ITS 2 28S. Para confirmar la actividad antihelmíntica en las cepas bioactivas, se llevó a cabo un segundo estudio con validez estadística. Los datos se evaluaron mediante un análisis completamente al azar complementando con una prueba de tukey ( $p=0.05$ ). Resultados y discusión: En este estudio se confirmó la actividad de los extractos (metanol/diclorometano 70:30) evaluados a las 72 horas; de estos resultados se seleccionaron cuatro cepas consideradas como productoras de compuestos antihelmínticos cuyos porcentajes de mortalidad contra *H. contortus* fueron los siguientes: *Arthrobotrys conoides* CL25 (51.93%), *A. arthobotryoides* RM 5.2 (54.97%) *A. oligospora*. Ovi 29 (60.68%), y en condiciones agitadas *Purpureocillium lilacinum*. (77.68%). Como se puede observar, los compuestos responsables de la actividad antihelmíntica obtenidos en los respectivos extractos (metanol/diclorometano 70:30), confirman que los compuestos nematicidas se encuentran en el medio intracelular del micelio de estas cepas. Hasta ahora, se tienen referencias de compuestos antihelmínticos presentes en los hongos nematófagos, por dicho motivo, esperamos elucidar compuestos antihelmínticos que puedan ayudar a controlar al nematodo *Haemonchus contortus* en el ganado ovino.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN PARASITOLÓGICA Y DE RESPUESTA INMUNE HUMORAL INDUCIDA POR UNA PROTEÍNA QUIMÉRICA CONTRA FASCIOSIS EN OVINOS.

### PARASITOLOGICAL AND HUMORAL RESPONSE EVALUATION INDUCED BY CHIMERIC PROTEIN AGAINST FASCIOSIS IN SHEEP.

Ortega VS<sup>1\*</sup>, Espitia C<sup>2</sup>, Sahagún RA<sup>3</sup>, Parada CC<sup>2</sup>, Balderas LA<sup>1</sup>, Villa MA<sup>4</sup>, Quiroz RH<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

<sup>3</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>4</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Tecamachalco, Puebla, México

\*fmvz.samy@comunidad.unam.mx

Palabras clave: Inmunización, ovinos, *Fasciola hepatica*.

#### Resumen

La evaluación de Catepsina L1 (FhCL1) y Leucina Aminopeptidasa (FhLAP) de *F. hepatica* como inmunógenos en rumiantes han inducido niveles significativos de protección y se han propuesto como la primera vacuna comercial contra Fasciolosis. Previamente, nuestro grupo de investigación diseñó y construyó una proteína quimérica con secuencias antigénicas de FhCL1 y FhLAP, la cual mostró propiedades antigénicas con suero de bovino infectados naturalmente y propiedades inmunogénicas al inmunizar conejos (*doi*: 10.1017/S0022149X14000686). El objetivo del presente estudio fue evaluar el nivel de protección conferida por una proteína quimérica en ovinos infectados por *F. hepatica*. Materiales y métodos. Tres grupos (G, n=5) se inmunizaron en dos ocasiones con 100, 200 y 400 microgramos de la proteína quimérica mas el adyuvante Quil A. Los grupos 4 y 5 fueron control adyuvante y control de infección, respectivamente. Los animales se desafiaron con metacercarias de *F. hepatica* 15 días post-segunda inmunización con el inmunógeno. El nivel de protección inducida por el inmunógeno fue analizado a nivel parasitológico (carga parasitaria, conteo de huevos de *F. hepatica* y su viabilidad) y de respuesta inmune humoral (IgG e isotipos IgG1, IgG2 contra antígenos nativos del parásito y con la proteína quimérica). Resultados. En los animales inmunizados con la proteína quimérica, una reducción significativa fue obtenida en la carga parasitaria ( $p<0.05$ ) y conteo de huevos fecales ( $p<0.05$ ), comparado con el grupo control de la infección. Sin embargo, no hubo reducción significativa de la viabilidad de huevos obtenidos en muestras fecales ( $p>0.05$ ) comparados con el grupo control de la infección. Los ovinos inmunizados desarrollaron títulos de anticuerpos IgG1 e IgG2 contra la proteína quimérica más altos comparado con los grupos control, indicando una mezcla de respuesta Th1/Th2.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## VIABILIDAD DE HUEVOS DE *F. hepatica* EN OVINOS INMUNIZADOS CON UNA PROTEÍNA QUIMÉRICA

### VIABILITY OF *F. hepatica* EGGS IN SHEEP IMMUNISED WITH A CHIMERIC PROTEIN

Ortega VS<sup>1\*</sup>, Espitia C<sup>2</sup>, Cruz MI<sup>1</sup>, Sahagún RA<sup>3</sup>, Balderas LA<sup>1</sup>, Quiroz RH<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Departamento de inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

\*fmvz.samy@comunidad.unam.mx

Palabras clave: huevos, viabilidad, *Fasciola hepática*

#### Resumen

En estudios anteriores, nuestro grupo de investigación diseñó y construyó un gen quimérico de las proteasas leucin Aminopeptidasa y Catepsina L1 de *F. hepatica*, para expresar una proteína quimérica denominada rFhLAP-CL1. Posteriormente, demostramos que la proteína quimérica fue capaz de inducir protección moderada en ovinos infectados experimentalmente, medido en base a la reducción de la carga parasitaria y en el conteo de huevos fecales. Además, desarrollaron una mezcla de respuesta inmune Th1/Th2, el cual ha sido relacionada con protección contra fasciolosis en ovinos. El objetivo del presente estudio fue determinar el porcentaje de la viabilidad de huevos de *F. hepatica* colectadas de muestras fecales y de vesícula biliar de ovinos inmunizados con la proteína quimérica y compararlo con los grupos control. Materiales y métodos. Huevos de *F. hepatica* de vesícula biliar y heces fueron obtenidos por la técnica de sedimentación, contados e incubados a 27°C por 15 días para permitir su embrionación. Tras la incubación, los huevos fueron estimulados para su eclosión con luz artificial (100W). La viabilidad de huevos de *F. hepatica* fue evaluada al estimar el porcentaje de huevos que contenían un miracidio bien desarrollado con una mancha ocular característico o que huevos que habían eclosionado, el resultado se expresó en porcentaje. Resultados. La viabilidad de huevos de *F. hepatica* obtenidas de la vesícula biliar en ovinos inmunizados fue más baja (22-28%) comparada con el grupo control de la infección (59.6%). No obstante, la viabilidad de huevos de *F. hepatica* analizadas de muestras fecales de ovinos inmunizados fue similar (67-82%) a los grupos control (73-88%). Hubo una correlación negativa entre huevos no embrionados en heces y carga parasitaria ( $r^2=-0.6468$ ,  $p=0.001$ ). Conclusión. La proteína quimérica indujo una ligera reducción en la viabilidad de huevos en heces comparado con los grupos control.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD NEMATICIDA DEL EXTRACTO DE HOJAS DE *Moringa oleifera* CONTRA EL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS *Haemonchus contortus*

### NEMATICIDE ACTIVITY OF THE LEAF EXTRACT OF *Moringa oleifera* AGAINST THE NEMATODE PARASITE OF SHEEP *Haemonchus contortus*

Páez LSY<sup>1,2</sup>, Aguilar ML\*<sup>1</sup>, Carrillo MM<sup>2</sup>, Castañeda RGS<sup>1</sup>, Olmedo JA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Helminología, CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México.<sup>2</sup>Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México.  
aguilar.liliana@inifap.gob.mx

Palabras clave: Nematodo parásito de ovinos, etnoveterinaria, productos naturales

#### Introducción

Los nematodos parásitos de animales causan un impacto negativo a nivel mundial y nacional, de acuerdo con el estudio realizado por Rodríguez-Vivaz et al. (2017) sobre la evaluación de las pérdidas económicas de los parásitos del ganado bovino en México, las pérdidas anuales por parásitos en bovinos se estiman en \$865,400 millones de pesos en el país, teniendo como consecuencia una baja producción económica en el área pecuaria. La infección con el nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus* es el problema de salud más importante de los ovinos en la mayoría de los lugares que tienen lluvias en verano y en las áreas tropicales y subtropicales (Salas et al., 2016), habita en el abomaso e intestino delgado de los rumiantes, clínicamente se caracteriza por unos signos de mala digestión y anemia, la enfermedad se presenta con mayor intensidad en animales jóvenes. La transmisión se realiza por la ingestión de pasto con larvas. Este tipo enfermedades parasitarias han sido controladas mediante el uso de medicamentos de naturaleza química, conocidos como “antihelmínticos”, que ayudan a reducir las cargas parasitarias en los animales y los ganaderos esperan que, al administrar estos productos en sus animales, su salud mejore sustancialmente. Desafortunadamente, estos resultados no siempre se logran ya que la eficacia de dichos medicamentos es cada vez menor, debido a la generación de mutaciones por parte de los parásitos confiriéndoles una resistencia a las drogas antiparasitarias, comprometiendo severamente la salud e inclusive la vida de los animales (Alcalá-Cantó et al., 2016), este problema ha sido motivo de búsqueda de otras alternativas de control que permitan sustituir o disminuir parcialmente el uso de compuestos químicos antiparasitarios. En el control de parásitos se han utilizado diversas plantas que contienen productos/metabolitos con efecto antihelmíntico. Los principales compuestos de estas plantas son los terpenos, los alcaloides, las saponinas, las antraquinonas y los taninos; las plantas medicinales han sido usadas por las comunidades indígenas de América Latina en la herbolaria tradicional, como una práctica milenaria, y actualmente se evalúan en diversos estudios a nivel mundial con un concepto etnobotánico (Alonso-Díaz et al., 2009). La planta *M. oleifera* Lam. conocida comúnmente como moringa, es un árbol pequeño y de crecimiento acelerado que usualmente alcanza de 10-12 m de altura, tiene una copa abierta y esparcida de ramas inclinadas y frágiles, un follaje plumoso de hojas pinadas en tres y una corteza gruesa, blanquecina y de aspecto corchozo. Recientemente se ha demostrado la presencia en *M. oleifera* de importantes fitoquímicos responsables de sus propiedades curativas (Doménech-Asensi et al., 2017). En uno de los primeros estudios exhaustivos sobre la composición química de esta especie se reveló que es rica en varias sustancias muy peculiares, como glucosinolatos, isotiocianatos,



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

flavonoides, antocianinas, proantocianidinas y cinamatos; también se incluyó la distribución de fitoquímicos en las distintas partes del árbol. Varios de los compuestos identificados pueden considerarse “nutracéuticos”, ya que son útiles tanto en la nutrición como en la salud humana (Velázquez-Zavala et al., 2016).

### Objetivo

Evaluar la actividad nematocida del extracto de hojas de *M. oleifera* contra huevos y larvas infectantes L<sub>3</sub> del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.

### Material y métodos

#### Localización

La presente investigación fue realizada en la Unidad de Helmintología del CENID-SALUD ANIMAL E INOCUIDAD, INIFAP y en la Universidad Politécnica del Estado de Morelos (UPEMOR), ambos ubicados en Jiutepec, Morelos.

#### Material biológico

##### Obtención de hojas de *M. oleifera*

La recolección de hojas de *M. oleifera* se llevó a cabo en el municipio de Tlayacapan, Morelos, México, entre febrero y abril de 2016. Las hojas lavadas se dejaron secar a la sombra a temperatura ambiente, durante cinco días, al cabo de los cuales se trituraron manualmente. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas de plástico con cierre hasta su posterior uso (Páez-León, 2018).

##### Obtención de extracto de acetato de etilo de *M. oleifera*

Una muestra de 329 g de hojas secas de *M. oleifera* se sometió a extracción por maceración con empleando acetato de etilo (AcOEt). La extracción se llevó a cabo utilizando una proporción hoja: disolvente de 200 g/L, a 30°C, con agitación constante (95 rpm), durante 48 h, en un agitador orbital con incubación; al cabo de ese tiempo, la muestra se filtró por gravedad y el filtrado se concentró *in vacuo*, a 40-45°C (Páez-León, 2018).

##### Obtención de huevos de *H. contortus*

Se utilizó un ovino donador bajo condiciones controladas de alojamiento y alimentación en el CENID-SAI, INIFAP. Las muestras fueron recolectadas directamente del animal y maceradas hasta obtener una mezcla homogénea la cual fue tamizada y lavada con agua de la llave en mallas de distintas aperturas (300, 120, 100 y 35 micras). Posteriormente el líquido resultante se recolectó y se lavó con sacarosa al 40% en una relación 3:1, se centrifugó a 3,500 rpm durante 5 min, con el fin de formar un gradiente de densidad recuperando así los huevos que quedan en el anillo que se forma. Posterior a esto los huevos son sometidos a 3-5 lavados con agua destilada los cuales se centrifugan por 5 min a 3,500 rpm para eliminar la mayor cantidad de sacarosa y residuos fecales (Páez-León, 2018).

##### Producción de larvas infectantes de *H. contortus*

A los 21 días después de la infección se recolectaron las heces en donde están almacenados los huevos con ayuda de una palangana y se realizaron medios de cultivo con condiciones adecuadas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

para la obtención de larvas infectantes. Incubándose durante siete días. Pasado el periodo de incubación se recuperaron las larvas por medio de la técnica del embudo de Baermann. Para el desenvaine de las larvas (L<sub>3</sub>) se utilizó hipoclorito comercial al 6% y se preparó una solución a una concentración de 0.187% en donde se expusieron las larvas durante 5 min, posteriormente se realizaron tres lavados con agua destilada durante 1.5 min a 3500 rpm con el fin de eliminar el hipoclorito de sodio (Páez-León, 2018).

Confrontación *in vitro* del extracto del extracto de AcOET de *M. oleifera* en contra de huevos de *H. contortus*

Se utilizaron placas de micro titulación de 96 pozos. Se procedió a realizar disoluciones seriadas a diferentes concentraciones siendo 20, 10, 15, 2.5 y 1.25 mg/mL. Por cada pozo se colocaron 50 µL de cada concentración y 50 µL de una suspensión acuosa de huevos de *H. contortus*, obteniendo así un volumen final de 100 µL y 100 huevos por cada pozo. Se incluyeron un control positivo de agua destilada y un control negativo de Ivermectina (5 mg/mL). Se realizó por duplicado con una n=4 para cada tratamiento, las placas se cubrieron con papel aluminio y fueron incubadas durante 72 h a una temperatura de 27±1 °C, posterior al periodo de incubación se procedió a realizar la lectura (Pineda-Alegría et al., 2017).

Confrontación *in vitro* del extracto de AcOET de *M. oleifera* en contra de larvas (L<sub>3</sub>) de *H. contortus*  
Se utilizaron placas de micro titulación de 96 pozos. Se procedió a realizar disoluciones seriadas a diferentes concentraciones siendo 20, 10, 15, 2.5 y 1.25 mg/mL. Por cada pozo se colocaron 50 µL de cada concentración y 50 µL de una suspensión acuosa de larvas L<sub>3</sub> de *H. contortus*, obteniendo así un volumen final de 100 µL y 100 huevos por cada pozo. Se incluyeron un control positivo de agua destilada y un control negativo de Ivermectina (5 mg/mL). Se realizó por duplicado con una n=4 para cada tratamiento, las placas se cubrieron con papel aluminio y fueron incubadas durante 72 h a una temperatura de 27±1 °C, posterior al periodo de incubación se procedió a realizar la lectura (Pineda- Alegría et al., 2017).

Análisis estadístico: el porcentaje de inhibición/mortalidad fue calculado mediante la siguiente fórmula (Pineda-Alegría et al., 2017).

$$\% \text{ Inhibición/ mortalidad} = \frac{\square \text{ control negativo} - \square \text{ tratado}}{\square \text{ control negativo}} * 100$$

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA a través de un diseño factorial completamente al azar en el programa SAS V9, donde los factores fueron: extracto, concentración y nematodo, con el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + \text{Extracto}_i + \text{Concentración}_j + \text{Nematodo}_k + (\text{Extracto} * \text{Concentración})_{ij} + (\text{Extracto} * \text{Nematodo})_{ik} + (\text{Extracto} * \text{Concentración} * \text{Nematodo})_{ijk} + \text{Error}$

### Resultados y discusión

La inhibición de la eclosión de huevos muestra que el mayor porcentaje de inhibición fue de 95.83±10.20 a una concentración de 20 mg/mL y sobre la mortalidad de larvas L<sub>3</sub> el mayor porcentaje fue 68.19±20.82 a 1.25 mg/mL. Actualmente el uso indiscriminado de los antihelmínticos para el control de los nematodos parásitos de ovinos, han generado el problema de la resistencia hacia estos productos, por lo que se han implementado diversas alternativas de control siendo una de ellas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

el uso de plantas medicinales. Mbogning Tayo, 2014 evaluaron *in vitro* la eficacia del extracto acuoso, así como del extracto etanólico de *M. oleifera* contra huevos, huevos larvados, larvas L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> de *H. contortus*, utilizando cinco concentraciones diferentes (0.625, 1.25, 2.5, 3.75 y 5 mg/mL), los resultados mostraron que el extracto etanólico obtenido de las hojas de *M. oleifera* fue más eficiente en huevos al inhibir en un rango del 60.3±8.2% y 92.8±6.2% de huevos a 3.75 y 5 mg/mL, también inhibió el 99 ± 2% de la eclosión de huevos de *H. contortus* a 5 mg/mL. En cuanto a la actividad sobre las larvas, el extracto etanólico también fue mayor induciendo un 98.8± 2.5% y 100 ± 0% de mortalidad de larvas L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> a 5 mg/mL respectivamente. A través de los años se han hecho estudios acerca de las propiedades y usos de la planta *M. oleifera* debido a su importancia nutricional ya que el contenido de proteínas, vitaminas y minerales es muy sobresaliente destacando que en esta planta se encuentran todos los aminoácidos esenciales. La mayoría de los usos medicinales de *M. oleifera* están relacionados a las propiedades de los compuestos presentes en hojas, semillas y raíces. Las hojas de *M. oleifera* contienen varios compuestos bioactivos como el nitrilo, glucósidos de aceite de mostaza y tiocarbamato glucósidos, los cuales ejercen un efecto directo sobre la presión arterial, por lo que estos pueden ser utilizados para la estabilización de la presión arterial en humanos (Anwar et al., 2007).

### Conclusión

El extracto de AcOET de las hojas de la planta *M. oleifera* presentó un efecto inhibitorio contra la eclosión de huevos y la mortalidad de larvas infectantes L<sub>3</sub> del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*, por lo cual se puede implementar como una estrategia de control sustentable.

### Fuente financiadora

El presente estudio fue financiado parcialmente con el Proyecto Fiscal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias del INIFAP con número: 834432984.

### Referencias bibliográficas

- Alcalá-Cantó, Y., Ocampo-Camberos, L. Sumano-López, H., Gutiérrez-Olvera, L., Tapia-Gutiérrez, G. (2016). Anthelmintic resistance status of gastrointestinal nematodes of sheep to the single or combined administration of benzimidazoles and closantel in three localities in Mexico. *Veterinaria México*. 3(4). <http://veterinariamexico.unam.mx/index.php/vet/article/view/374/482>.
- Alonso-Díaz, M.A., J.F.J. Torres-Acosta, C.A. Sandoval-Castro, H. Hoste, A.J. Aguilar-Caballero, y C.M. Capetillo-Leal. (2009). "Sheep Preference for Different Tanniferous Tree Fodders and Its Relationship with *in Vitro* Gas Production and Digestibility." *Animal Feed Science and Technology* 151 (1–2): 75–85. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2008.12.002>.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., y Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17-25. Doi: 10.1002/ptr.2023
- Doménech-Asensi, G., Durango- Villaadiego, A.M., Ros- Berruezo, G. (2017). *Moringa oleifera*: Revisión sobre aplicaciones y usos en alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 67 (2):86-97.
- Mbogning-Tayo, G., Wabo-Poné, J., Komtangi M.C., Yondo, J., Ngangout, A. M., Mbida, M. (2014). Anthelmintic Activity of *Moringa oleifera* Leaf Extracts Evaluated *In Vitro* on Four Developmental Stages of *Haemonchus contortus* from Goats. *American Journal of Plant Sciences*. 05. 1702-1710. doi: 10.4236/ajps.2014.511185.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Páez-León, S.Y. (2018). Actividad nematocida de extractos de sustrato agotado de *Pleurotus ostreatus* y *Moringa oleifera* contra nematodos de importancia agropecuaria. Tesis de licenciatura. Jiutepec, Morelos, México.
- Pineda-Alegría, A., Sánchez-Vázquez J.E., González-Cortázar M., Alejandro-Zamilpa A., López-Arellano M.E., Cuevas-Padilla E.J., Mendoza-de-Gives P., Aguilar-Marcelino L. (2017). The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food*. 20:1184-1192.
- Rodríguez-Vivas, R. I., G. Laerte, A.A. Pérez-de-León, H. Silva V., J.F. de Jesús Torres-Acosta, H. Fragoso S., D. Romero S., R. Rosario C., F. Saldierna, y D. García C. (2017). Evaluación del impacto económico potencial de los parásitos del ganado bovino en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. pp. 61-74.
- Salas-Zapata, R., Velásquez-Vélez, R., Herrera-Ospina, L.V., Ríos-Osorio, L., Polanco-Echeverry, D.(2016). "Prevalencia de Nematodos Gastrointestinales En Sistemas de Producción Ovina y Caprina Bajo Confinamiento, Semiconfinamiento y Pastoreo En Municipios de Antioquia, Colombia." *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru* 27 (2): 344-54. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11647>.
- Velázquez-Zavala, M., Peón-Escalante, I. E., Zepeda-Bautista, R., & Jiménez-Arellanes, M. A. (2016). *Moringa (Moringa oleifera Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine*. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22(2), 95-116. doi: 10.5154/r.rchsh.2015.07.018





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ACTIVIDAD NEMATICIDA DEL EXTRACTO DE SUSTRATO AGOTADO DE *Pleurotus ostreatus* CONTRA EL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS *Haemonchus contortus* ASSESSMENT *in vitro* OF SUBSTRATE *Pleurotus ostreatus* EXTRACT AGAINST THE PARASITIC NEMATODE OF OVINE *Haemonchus contortus*

Páez LSY<sup>1,2</sup>, Aguilar ML<sup>\*1</sup>, Acosta UMDL<sup>3</sup>, Castañeda RGS<sup>1</sup>, Mendoza DGP<sup>1</sup>, Sánchez VJE<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Helminología, CENID-SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México, <sup>2</sup>Universidad Politécnica del estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México, <sup>3</sup>Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México, <sup>4</sup>Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, Chiapas, México.  
aguilar.liliana@inifap.gob.mx.

Palabras clave: Hongos comestibles, productos nutraceuticos, salud animal.

### Introducción

Las enfermedades parasitarias se encuentran entre las causas más frecuentes e importantes que ocasionan una ineficiencia biológica y económica en los sistemas pecuarios del país, tales problemas disminuyen sutil o apreciablemente la producción de los animales trayendo como consecuencia baja utilidad al productor, favoreciendo el desaliento y abandono de la actividad pecuaria. Actualmente las parasitosis en los ovinos representan un problema económico, debido a que generan pérdidas importantes para los ganaderos (Grisi et al., 2014). Uno de los mayores problemas de salud con nematodos gastrointestinales (NGI) en ovinos es la infección con *Haemonchus contortus*, el modo de infección se realiza por la ingestión de pasto con larvas infectantes de este nematodo, las cuales habitan en el abomaso e intestino delgado de los rumiantes, clínicamente se caracteriza por un síndrome de mala digestión y anemia, la enfermedad se presenta con mayor intensidad en animales jóvenes (Squires et al., 2010). El control de los NGI se ha basado en la aplicación de diversos fármacos con actividad antihelmíntica, los cuales ayudan a reducir las cargas parasitarias en los animales; sin embargo, debido a su uso indiscriminado se han generado problemas de resistencia antihelmíntica por lo que se han implementado estrategias de control alternativo como la desparasitación selectiva, vacunación, control biológico y el uso de hongos comestibles. El cultivo de hongos comestibles constituye un sistema de producción-consumo, el cual ha adquirido a nivel mundial una relevancia de tipo integral que constituye el aspecto social, económico, ecológico, medicinal y nutraceutico. Los hongos comestibles del género *Pleurotus* spp. poseen actividad antiparasitaria (cestocida y nematocida) (Velasco-Cruz, 2017; Aguilar-Marcelino et al., 2017). Por otra parte, el sustrato degradado (por sus siglas en inglés SMS) se genera una vez que cesa la producción de cuerpos fructíferos en el cultivo de macromicetos, esto sucede una vez que el sustrato en el que fue inoculado el micelio no cuenta con más nutrientes disponibles para la absorción y nutrición del hongo. El sustrato degradado compuesto por materiales como la paja de trigo, de avena, de centeno, de sorgo y de algodón, virutas de madera y de corteza, subproductos de algodón, heno, tallos de planta de maíz, plantas y desperdicios de café, tusa de mazorca, hoja de té, cáscara de maní, harina de soya, cáscaras de semillas de girasol, desperdicios de alcaucil, desperdicios de yuca, agave, residuos de la industria papelera (diarios, cartones), hojas de plátano, cactus, yuca, pulpa de cardamomo, fibra de coco, hojas de limón, tallas de pimienta, paja de arroz y bagazo de caña, entre



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

otros (Staments, 2005), adicionalmente posee diversas aplicaciones entre las que se encuentran abono orgánico, sustrato nematicida, bactericida y para la biorremediación *in situ* de agua y suelo en regiones que son contaminadas por hidrocarburos o residuos orgánicos similares a la lignina.

### Objetivo

Evaluar el efecto *in vitro* del extracto hidroalcohólico del sustrato agotado del hongo *P. ostreatus* contra huevos y larvas (L<sub>3</sub>) del nematodo *H. contortus*.

### Material y métodos

#### Localización

La presente investigación fue realizada en la Unidad de Helmintología del CENID-SALUD ANIMAL E INOCUIDAD, INIFAP ubicada en Jiutepec, Morelos, México, y en el Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM ubicado en Cuernavaca, Morelos, México.

#### Producción del sustrato agotado

El sustrato agotado se obtuvo del cultivo de la cepa comercial de *P. ostreatus* (cepa HEMIM-50 depositada en el cepario de hongos del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM). El sustrato utilizado fue paja de trigo picada y pasteurizada en 135 L de agua con 500 g de cal, durante 1 h entre 70-80 °C. Posteriormente se drenó el exceso de humedad del sustrato y se sembró con el inóculo en proporción del 5%. Las bolsas de cultivo se mantuvieron en incubación por 35 días a 25 °C en oscuridad, la cepa obtuvo un ciclo de cultivo de 60 días, una eficiencia biológica de 83% y una tasa de producción de 1.3 % (Páez-León, 2018; Páez-León et al., 2019).

#### Obtención de EHSDPO

El sustrato agotado se colocó en un matraz Erlenmeyer, con un disolvente hidroalcohólico 70-30% etanol-agua, y se dejó incubar a temperatura ambiente durante 24 h. Posteriormente se realizó una filtración utilizando un sistema de algodón y gasas. La muestra se concentró utilizando un rotaevaporador, y se secó al alto vacío utilizando un liofilizador. El extracto se almacenó a una temperatura de 4°C hasta su uso (Páez-León, 2018).

#### Obtención de huevos de *H. contortus*

Se utilizó un ovino donador bajo condiciones controladas de alojamiento y alimentación en el CENID-SAI, INIFAP. Pasados 21 días después de la infección, se procedió a tomar muestras de heces directamente del animal y fueron maceradas hasta obtener una mezcla homogénea la cual fue tamizada y lavada con agua de la llave en mallas de distintas aperturas (300, 120, 100 y 35 micras). Posteriormente el líquido resultante se recolectó y se lavó con sacarosa al 40% en una relación 3:1, se centrifugó a 3,500 rpm durante 5 min, con el fin de formar un gradiente de densidad recuperando así los huevos que quedan en el anillo que se forma. Posterior a esto los huevos son sometidos a 3-5 lavados con agua destilada los cuales se centrifugan por 5 min a 3,500 rpm para eliminar la mayor cantidad de sacarosa y residuos fecales (Pineda-Alegría, 2017).

#### Producción de larvas infectantes de *H. contortus*

A los 21 días después de la infección se recolectaron las heces y se realizaron medios de cultivo con condiciones adecuadas para la obtención de larvas infectantes. Incubándose durante siete días.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Pasado el periodo de incubación se recuperaron las larvas por medio de la técnica del embudo de Baermann Pineda-Alegría, 2017), para el desvenado de las larvas (L<sub>3</sub>) se utilizó hipoclorito comercial al 6% y se preparó una solución a una concentración de 0.187% en donde se expusieron las larvas durante 5 min, posteriormente se realizaron tres lavados con agua destilada durante 1 min a 3500 rpm con el fin de eliminar el hipoclorito de sodio (Pineda-Alegría, 2017).

Confrontación *in vitro* del EHS DPO en contra de huevos y larvas L<sub>3</sub> de *H. contortus*

Para la evaluación de la actividad nematicida de los extractos en contra de huevos/larvas del nematodo *H. contortus* se utilizaron placas de micro titulación de 96 pozos. Se procedió a realizar disoluciones seriadas a diferentes concentraciones siendo 100, 80, 60, 40 y 20 mg/mL. Por cada pozo se colocaron 50 µL de cada concentración y 50 µL de una suspensión acuosa de huevos/larvas de *H. contortus*, obteniendo así un volumen final de 100 µL y 100 huevos/larvas por cada pozo. Se incluyeron un control positivo de agua destilada y un control negativo de Ivermectina (5 mg/mL). Se realizó por duplicado con una n=4 para cada tratamiento, las placas se cubrieron con papel aluminio y fueron incubadas durante 72 h a una temperatura de 27±1 °C, posterior al periodo de incubación se procedió a realizar la lectura (Páez-León et al., 2019).

Análisis estadístico: el porcentaje de inhibición/mortalidad fue calculado mediante la siguiente fórmula (Pineda-Alegría, 2017):

$$\% \text{ Inhibición/ mortalidad} = \frac{\square \text{ control negativo} - \square \text{ tratado}}{\square \text{ control negativo}} * 100$$

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA a través de un diseño factorial completamente al azar en el programa SAS V9, donde los factores fueron: extracto, concentración y nematodo, con el siguiente modelo:  $Y_{ijk} = \mu + \text{Extracto}_i + \text{Concentración}_j + \text{Nematodo}_k + (\text{Extracto} * \text{Concentración})_{ij} + (\text{Extracto} * \text{Nematodo})_{ik} + (\text{Extracto} * \text{Concentración} * \text{Nematodo})_{ijk} + \text{Error}$

### Resultados y discusión

La inhibición de la eclosión de huevos muestran que el mayor porcentaje de inhibición fue de 83.67±13.92 a una concentración de 20 mg/mL, para el caso de la mortalidad de larvas L<sub>3</sub> se obtiene un porcentaje de mortalidad de larvas de 92.03±4.80 en una concentración de 20 mg/mL, ambos a 72 h; sin embargo, a una concentración mayor el porcentaje por lo que se hipotetiza que a concentraciones altas ocurra un fenómeno de "osmosis". El uso indiscriminado de los antihelmínticos para el control de los nematodos parásitos de ovinos, han generado el problema de la resistencia hacia estos productos, siendo las lactonas macrocíclicas (avermectinas, milbemicinas, espinosinas) las que presentan mayor toxicidad y efectos adversos sobre la fauna edáfica asociada al estiércol, afectando mayormente a los escarabajos estercoleros (Coleoptera: Scarabaeinae y Aphodiinae) de ambientes ganaderos bajo sistemas de pastoreo al ser eliminados estos productos en las heces de los animales, en una dosis que va desde 0.2- 1.5 mg/kg (Pérez-Cogollo et al., 2018). La generación de residuos derivados de la actividad agroindustrial de la producción de hongos comestibles ha sido un tema de interés entre investigadores en todo el mundo, debido a que algunos de los compuestos presentes son utilizados como materia prima para la generación de gran diversidad de productos de aplicación e importancia industrial (Saval, 2012). El cultivo de hongos comestibles y los residuos agroindustriales que se generan representan una alternativa de aprovechamiento de este recurso,



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

por su alto valor nutricional (nutracéutico). El sustrato agotado compuesto por diferentes materiales lignocelulósicos que se utiliza para la producción de hongos comestibles, contiene diversas enzimas y compuestos químicos los cuales son encargados de la actividad nematocida. Cabe destacar que actualmente no se han realizado estudios sobre el uso del sustrato agotado de *P. ostreatus* contra el nematodo *H. contortus*, por tal motivo el presente estudio generó las bases para continuar con estudio del aprovechamiento del sustrato agotado de los hongos comestibles que en México se desperdicia de manera masiva por la industria productora de hongos comestibles dado que se demostró que el EHSDPO presento un efecto nematocida contra huevos y larvas L<sub>3</sub> de *H. contortus*.

### Conclusión

El EHSDPO presentó un efecto sobre la inhibición de la eclosión de huevos y mortalidad contra larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de *H. contortus* a 72 h postconfrontación, en el sustrato agotado hay presencia de compuestos con actividad nematocida, por lo que, se puede implementar como una alternativa de control contra nematodos, sin perjudicar el ecosistema en el que viven los animales.

### Fuente financiadora

La presente investigación recibió apoyo financiero del CONACYT, México (Convocatoria Problemas Nacionales, 2017), No. de proyecto 126834636.

### Referencias bibliográficas

- Aguilar-Marcelino, L., Sánchez-Vázquez, J.E., Mendoza-de-Gives, P. 2017. Uso biotecnológico de productos obtenidos a partir de *Pleurotus* spp. en el control de nematodos parásitos de importancia pecuaria. En: La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. José E. Sánchez y Daniel J. Royse, Eds. Chiapas, México: ECOSUR. pp 297-309.
- Grisi, L., Cerqueira, R., de Souza, J., Madeiros, A., Andreotti, R., Duarte, P., Pérez, A., Barros, J., Silva, H. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 23(2): 150-156.
- Páez-León, S.Y., 2018. Actividad nematocida de los extractos de sustrato agotado de *Pleurotus ostreatus* y *Moringa oleifera* contra nematodos de importancia agropecuaria. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Jiutepec, Morelos, México.
- Páez-León, S.Y., Aguilar-Marcelino, L., Sánchez-Vázquez, J.E., Acosta-Urdapilleta, M.L., Téllez-Téllez M., Castañeda-Ramírez, G.S., Mendoza-de-Gives, P., 2019. Assessment *in vitro* of substrate *Pleurotus ostreatus* extract against the parasitic nematode of ovine *Haemonchus contortus*. IX Congresso Brasileiro de Micología.
- Pérez-Cogollo, L.C., Rodríguez-Vivas, R.I., Basto-Estrella, G., Reyes-Novelo, E., Martínez-Morales, I., Ojeda-Chi, M.M., Favila, M.E. 2018. Toxicidad y efectos adversos de las lactonas macrocíclicas sobre los escarabajos estercoleros: una revisión. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89, 1293-1314.
- Pineda-Alegría, J.A., 2017. Evaluación *in vitro* de una fracción metanólica del hongo *Pleurotus djamor* (0123) contra huevos y larvas (L<sub>3</sub>) del nematodo parásito *Haemonchus contortus*. Tesis de licenciatura. Jiutepec, Morelos, México.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Staments, P. 2005. Mycelium Running: How Mushrooms Can Help Save the World. Ten Speed Press: Berkeley, CA, USA, 339 pp.
- Saval, S. 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. Revista de la Sociedad Mexicana Biotecnología y Bioingeniería A.C. ISSN 0188-4786. (16) pp. 14-46.
- Squires, J., Foster, J., Lindsay, D., Caudell, D., Zajac, A. 2010. Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. *Veterinary parasitology*. 172 (1-2): 95-99.
- Velasco-Cruz, K.S. 2017. Evaluación del extracto hidroalcohólico del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en contra de *Hymenolepsis diminuta*. Tesis de licenciatura. Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTIVIDAD DEL SISTEMA FAMACHA® COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO EN CABRAS ALPINA FRANCESA BAJO CONDICIONES DE CLIMA SEMIÁRIDO EFFECTIVENESS OF THE FAMACHA® SYSTEM AS A DIAGNOSTIC TOOL IN MEXICAN FRENCH ALPINE GOATS UNDER SEMI-ARID CONDITIONS

Pérez HHM<sup>1</sup>, Martínez OMC<sup>1</sup>, Domínguez HYM<sup>2</sup>, Guadarrama OM<sup>3</sup>, Torres AJFJ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México; México.

<sup>2</sup>Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en el Altiplano CEIEPAA. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Tequisquiapan, Querétaro; México.

<sup>3</sup>Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México; México

<sup>4</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, CCBA, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán; México. cintli@unam.mx

Palabras Clave: Desparasitación Selectiva Dirigida, FAMACHA®, Umbral HPG.

### Resumen

En México hay un creciente interés por establecer esquemas de Desparasitación Selectiva Dirigida (DSD) basados en umbrales económicos de acuerdo a la zona ecológica de una región, las especies hospederas y las características de los sistemas de producción.

El estudio se llevó a cabo durante 5 meses, en el CEIEPAA FMVZ-UNAM localizado en Tequisquiapan, Querétaro, México. Se obtuvieron los valores de FAMACHA®, Condición Corporal (CC), Hematocrito (HT) y Huevos por Gramos de Heces (HPG) de 57 cabras de raza alpina francesa una vez al mes. Los animales se encontraban en un sistema de producción lechera por lo que su estado fisiológico fue diferente en términos reproductivos y de lactación. Además, las cabras pastorearon praderas que estuvieron expuestas a diferentes condiciones climáticas de temperatura, humedad y lluvias.

Los datos obtenidos de las cabras fueron utilizados para estimar la Sensibilidad (Se) y Especificidad (Es) de diferentes umbrales de HPG (> 500 > 750 > 1000 y > 2000) con los valores de FAMACHA® (4,5) para la validación del esquema de DSD en las cabras utilizando el valor de HPG como el estándar de oro en la infección. Los porcentajes de Se fueron 14.2%, 14.3%, 21.4% y 33.3% para los umbrales de HPG >500 >700 >1000 y >2000 respectivamente. Mientras que los FN fueron 85.8%, 85.7%, 78.6% y 66.7% para cada umbral de HPG. El sistema FAMACHA® con base en el valor  $\geq 4$  deja fuera a muchos animales con HPG >1000 o >2000, que requerían tratamiento con antihelmínticos.

Este estudio confirma que el sistema FAMACHA® no puede ser usado como única herramienta de diagnóstico para nemátodos gastrointestinales en cabras adultas de raza Alpina Francesa bajo las condiciones del estudio. Es necesario usar otros métodos de diagnóstico que ayuden a reducir las limitaciones del sistema FAMACHA®.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PERFILES DE TRANSCRIPCIÓN DEL TRANSPORTADOR *P-gp* EN DIFERENTES ESTADIOS DE DOS AISLADOS DE *Haemonchus contortus* SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE A IVERMECTINA

### TRANSCRIPTION PROFILE OF *P-gp* TRANSPORTER IN DIFERENT STAGES OF TWO *Haemonchus contortus* ISOLATES SUSCEPTIBLE AND RESISTANT TO IVERMECTIN

\* Reyes GDE<sup>1</sup>, López AME<sup>1</sup>, Cedillo BM<sup>1</sup>, Alonso DMA<sup>2</sup>, Alonso MRA<sup>3</sup>, Mendoza GP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Helmintología, CENID-Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México

<sup>2</sup>Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical – UNAM, Tlapacoyan, Veracruz

<sup>3</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - UNAM, Cd. Universitaria, México  
reyes.david@inifap.gob.mx

Palabras clave *H. contortus*, P-Glicoproteínas, qRT-PCR.

#### Introducción

La producción ganadera a nivel nacional se lleva a cabo principalmente de manera extensiva, basada en el pastoreo. Las enfermedades causadas por ngi son limitante para la producción, principalmente en las regiones de trópico y clima templado, condiciones climatológicas que en su mayoría se encuentran en México, siendo la especie *H. contortus* la causante de un severo daño a la salud de los rumiantes, provocando daño a la mucosa gastrointestinal, la falta de apetito, anemia, entre otros signos clínicos, incluyendo la muerte, principalmente de los animales jóvenes (Miller et al., 2012). *H. contortus* presenta variaciones genéticas que están implicadas en los diferentes estadios de desarrollo y por su habilidad de adaptarse a las condiciones adversas durante su desarrollo fuera y dentro del hospedero (Laing et al., 2013).

El único método de control mayormente utilizado contra los ngi, es el uso de derivados de drogas antihelmínticas; sin embargo, el uso inadecuado de estos productos ha generado el aumento constante de RA, la cual ha sido evidenciada en diferentes poblaciones de especies de ngi, haciendo que el control de estas parasitosis sea cada vez más complicado (Kotze & Prichard, 2016). *H. contortus*, ha recibido gran atención como modelo biológico en el estudio de los mecanismos de la RA y genes implicados en la misma, como es el caso de los codificantes para *P-gp* en la resistencia a IVM. A este respecto, se han propuesto potenciales genes candidatos asociados a la resistencia en ngi, encontrándose aún bajo estudios, tratando de esclarecer el mecanismo de acción y resistencia de este tipo de drogas (Whittaker et al., 2016). *P-glicoproteína*, es uno de los principales transportadores de membrana de compuestos xenobioticos en ngi, asociado a la RA que presentan los nematodos por la detoxificación de fármacos como las LM (Gasser et al., 2016). El presente estudio, tiene la finalidad de comparar los niveles de transcripción de RNAm de diez genes funcionales de *P-gp* en un estadio de vida libre (huevo) y estadios endoparásitos (L<sub>4</sub> y adulto) de dos aislamientos autóctonos de referencia de *H. contortus* susceptible y resistente a IVM.

#### Objetivo



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Determinar y comparar el nivel de transcripción de diez genes funcionales de *P-glicoproteínas* (1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 14, 16) en huevo, estadio de vida libre y estadios endoparásitos, L4 y adulto del nematodo hematófago *H. contortus* resistente y susceptible a ivermectina mediante RT-qPCR,

### Materiales y métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en el departamento de Helminología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI), INIFAP en Jiutepec, Morelos.

Material biológico: *Haemonchus contortus*

Germoplasma de referencia del nematodo *H. contortus*, que no ha sido expuesto a ivm (susceptible), el cual es conservado en las instalaciones del laboratorio de Helminología, correspondiente al CENID-SAI, fue activado en cordero donador con 350 larvas infectantes por Kg de peso vivo, por vía oral. Así mismo, se trabajó con el aislamiento autóctono de *H. contortus* resistente a IVM recuperado de campo, previamente caracterizado mediante pruebas de campo y ensayos *in vitro*, el cual ha sido mantenido por la infección en corderos donadores infectados con 350 larvas infectantes por Kg de peso vivo. Mediante técnicas copro-parasitológicas se realizó la obtención de germoplasma para ambos aislamientos de *H. contortus*.

*Obtención de huevos.* Se utilizaron huevos de *H. contortus* de ambos aislamientos (susceptible y resistente a IVM) obtenidos a partir de heces colectadas del recto de los ovinos donadores. Los huevos fueron concentrados a través del paso de tamices con diferentes poros de diámetro (desde 200 a 37  $\mu\text{m}$ ). Posteriormente, los huevos fueron lavados mediante gradientes de densidad con solución de sacarosa al 40%.

*Cultivo y desarrollo in vitro de L<sub>4</sub> de H. contortus.* Larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de *H. contortus* de ambos aislados, fueron lavadas y desvainadas para llevar a cabo su desarrollo al primer estadio endoparásito (L<sub>4</sub>) *in vitro*. Aproximadamente, 50,000 L<sub>3</sub> se mantuvieron en solución de PBS 1X, pH 7.4 con antibiótico-antimicótico (100x, Amersham, UK) a 4 °C. Posteriormente, las L<sub>3</sub> fueron colectadas por centrifugación y se depositaron en medio Hank's, suplementado con eritrocitos en solución VyM, antibiótico antimicótico y anfoterisina e incubadas a 37 °C con un atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> para permitir el desarrollo a L<sub>4</sub> durante 21 días.

*Obtención de nematodos adultos de H. contortus.* Para la recuperación de parásitos adultos, se llevó a cabo la eutanasia experimental de un ovino donador a los 21 días post-infección con *H. contortus* de cada cepa. Posteriormente, se realizó la colecta de los adultos tanto de hembras como de machos directamente del abomaso de los rumiantes con ayuda de estiletes y enjuagues de la mucosa con PBS.

Expresión génica de *P-gp* en estadios de *H. contortus* entre aislamientos susceptible y resistente a IVM

*Purificación de RNA.* Se llevó a cabo la extracción de RNA total (RNA<sub>T</sub>) a partir de huevos, L<sub>4</sub> y adultos para ambos aislados de *H. contortus*. En todos los estadios del parásito, las muestras biológicas fueron previamente enjuagadas y maceradas por homogeneizador. La extracción de RNA<sub>T</sub> se realizó por triplicado para cada estadio y aislamiento en estudio, usando el reactivo Trizol®





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

(Thermo Fisher Scientific, USA). El RNA se separó y purificó con cloroformo e isopropanol, precipitándolo con etanol al 75%. Posteriormente, se realizó la síntesis de cDNA mediante kit comercial (PROMEGA) a partir de 300 ng de RNA total extraído por cada muestra.

*Expresión génica de P-gp.* Se realizaron reacciones de qPCR individuales de los genes *P-gp 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 14* y *16* y de los genes constitutivos *GAPDH* y  $\beta$ -*tubulina*, por cada muestra para los estadios de huevo, L4 y adulto de *H. contortus* susceptible y resistente a IVM. El análisis de expresión relativa de los genes entre el aislamiento resistente respecto al susceptible, se realizó con base en la normalización de los valores de la  $2^{\Delta\Delta Ct}$ , siendo la cepa susceptible el grupo control, analizados con el software de la plataforma web GeneGlobe Data Analysis Center de Qiagen®. Los datos de Ct fueron analizados automáticamente mediante una prueba de comparación de medias t-student a un nivel de significancia del 0.05 %.

### Resultados y discusión

#### Expresión génica de *P-gp* en *H. contortus*

*Expresión relativa en el estadio de vida libre (huevo) de H. contortus.* La comparación de la expresión relativa de los genes de P-gp evaluados entre el aislado resistente respecto al susceptible a IVM en huevo, muestra comportamiento endógeno en los genes de P-gp 1, 11, 12 y 14. En contraste, los genes 2, 3, 4, 9, 10 y 16 incrementaron su nivel de expresión, destacando el gen *P-gp16* con un incremento de 2.89 veces más ( $p < 0.05$ ) en el aislamiento resistente.

*Expresión relativa en estadios endoparásitos (L<sub>4</sub> y adulto) de H. contortus.* En la respuesta de expresión del primer estadio hematófago (L<sub>4</sub>) se incrementaron los niveles de transcritos para los genes P-gp 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12 y 16, observándose un alto incremento (241.63 veces más) para la P-gp 4. En contraste, solo dos genes, P-gp 9 y 14 mostraron valores sub-expresados. Así mismo, se mostraron valores significativos para los genes 9, 10 y 14 ( $p < 0.05$ ). Por otro lado, en el estadio adulto de *H. contortus* la mayoría de los genes incrementaron el nivel de expresión (P-gp's 1, 4, 9, 10, 11, 12, 14 y 16), alcanzando la máxima expresión el P-gp 14. Los genes P-gp 2 y 3 mostraron comportamiento similar a los constitutivos. Cabe mencionar que los genes P-gp 1, 9, 12, 14 y 16 mostraron valores significativos.

Cabe mencionar que los genes P-gp 4, 10 y 16 se mostraron sobre-expresados en los tres estadios de la cepa resistente, destacando el gen P-gp16 por su expresión significativa en el estadio de huevo y adulto ( $p < 0.05$ ), teniendo un incremento de la expresión de 2.89 veces más en huevo; y de 12.76 y 10.42 veces más para el primer estadio endoparásito y adulto, respectivamente. Interesantemente, el gen *P-gp 1* mostró sobre-regulación en ambos estadios endoparásitos, obteniendo una expresión relativa de 29.71 y 5.63 ( $p < 0.05$ ) veces más para L<sub>4</sub> y adulto, respectivamente, encontrándose en huevo con un comportamiento endógeno.

En el presente estudio, se seleccionaron dos poblaciones de *H. contortus*, caracterizadas en campo e *in vitro* como susceptible y resistente a IVM, las cuales mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para algunos de los genes de P-gp en diferentes estadios de desarrollo de *H. contortus*. Estudios previos, notificaron la sobreexpresión de los genes de P-gp en *H. contortus*, *Cooperia* spp. y el nematodo de vida libre *C. elegans*, asociados a la presión con LM. Tyden et al. (2014) y Godoy et al., (2015), notificaron incremento de la expresión de P-gp16 en *C. oncophora* y *H. contortus*. Así



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

mismo, Godoy, et al. (2015) encontraron mayor cantidad de transcritos en los adultos del mismo nematodo. Similares resultados relacionados a la sobreexpresión se observaron en el presente trabajo, utilizando diversos estadios de *H. contortus* resistente y susceptible a IVM. Los resultados obtenidos por estos autores respecto al incremento de la expresión del gen P-gp16 han permitido relacionar a la sobre-expresión como un indicador de resistencia a IVM.

### Conclusión

A través de la información colectada en el presente trabajo, se confirmó las variaciones que existen entre cepas, una de ellas no presionada con fármacos desde 1990. La comparación de esta cepa con una resistente a IVM muestra la importancia de genes como *P-gp 1, 4, 10 y 16* para tres de los estadios de *H. contortus*; con esta información se podrán diseñar estrategias moleculares para confirmar posibles marcadores en otros aislamientos autóctonos, y de esta forma, poder diseñar nuevos métodos de control y diagnóstico de RA.

### Referencias bibliográficas

- Laing, R., Kikuchi, T., Martinelli, A., Tsai, I.J., Beech, R.N., Redman, E., Holroyd, N., et al. (2013). The genome and transcriptome of *Haemonchus contortus*, a key model parasite for drug and vaccine discovery. *Genome Biol.* 14: 1-16
- Gasser RB, E.M. Schwarz EM, Korhonen PK, Young ND. 2016. Understanding *Haemonchus contortus* Better Through Genomics and Transcriptomics. *Advances in Parasitology.* 93. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.015>.
- Kotze AC, Prichard RK. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in parasitology.* 93: 397- 428.
- Miller CM, Waghorn TS, Leathwick DM, Candy PM, Oliver AM, Watson TG. 2012. The production cost of anthelmintic resistance in lambs. *Veterinary Parasitology.* 186 (3-4): 376-81.
- Godoy, P., Che, H J., Beech, R.N., Prichard, R.K. (2015). Characterization of *Haemonchus contortus* P-glycoprotein-16 and its interaction with the macrocyclic lactone anthelmintics. *Mol Biochem Parasitol.* 204: 11-5
- Tyden, E., Skarin, M., HoglundGene, J. 2014. Expression of ABC transporters in *Cooperia oncophora* after field and laboratory selection with macrocyclic lactones. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 198: 66-70
- Whittaker JH, Carlson SA, Jones DE, Brewer MT. 2016. Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* doi: 10.1111/jvp.12330
- Williamson, S.M., Wolstenholme, A.J. 2012. P-glycoproteins of *Haemonchus contortus*: development of real-time PCR assays for gene expression studies. *J. Helminthol.* 86:202–208.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN DE UN ELICITOR DE COMPUESTOS NEMATICIDAS EXTRACELULARES EN EL HONGO *Duddingtonia flagrans*

### ASSESSMENT OF AN EXTRACELLULAR NEMATOCIDAL COMPOUND ELICITOR IN *Duddingtonia flagrans*

Rodríguez LM<sup>1,2</sup>, Gamboa AMM<sup>2</sup>, Olmedo JA<sup>1</sup>, Medina BL<sup>2</sup>, Mendoza deGP<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> CENID-SAI, INIFAP, Boulevard Cuauhnáhuac No. 8534, Jiutepec, Mor. México CP 62550.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Calle 43 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97200, Mérida, Yucatán, México.

Palabras clave: *Haemonchus*, *Duddingtonia*, Biocontrol, filtrados.

#### Resumen

Introducción: *Duddingtonia flagrans* (*Df*) es un hongo nematófago (HN) que forma trampas para capturar y alimentarse de los nematodos. Algunos HN's producen sustancias nematicidas que aún no han sido descubiertas. Objetivo: Evaluar un extracto de larvas (L<sub>3</sub>) de *H. contortus* como posible agente elicitor de compuestos nematicidas extracelulares en *Df*. Materiales y métodos. Se obtuvo un extracto proteico (EP) a partir de un macerado de *H. contortus* (L<sub>3</sub>) para ser evaluado como un posible agente inductor de la elicitación de compuestos nematicidas en *Df*. El hongo *Df*, fue cultivado en medio Czapek-Dox (Cz-D) y en Czapek Dox adicionado con el EP (Cz-D+EP) durante 10 días. El líquido fue centrifugado y liofilizado. La prueba se realizó en placas de microtitulación. Se depositaron 20 µL de una suspensión acuosa conteniendo 100 L<sub>3</sub> del nematodo en cada pozo (n=4) más 80 µL del líquido filtrado reconstituido del HN. Como controles se utilizaron el medio Cz-D, agua e Ivermectina (5 mg/mL). Las placas se incubaron durante 48 h a 25°C. Se llevó a cabo el conteo de larvas vivas y muertas en los distintos tratamientos. Se obtuvo el porcentaje de mortalidad para cada tratamiento. Resultados y Discusión. El filtrado de cultivo del hongo en Cz-D provocó una mortalidad del 19.36%; mientras que el filtrado del HN incubado con Cz-D+EP, mostró una mortalidad del 80.57% La mortalidad en el control agua, fue de cero y en Ivermectina 100% (p<0.05). Conclusión. El HN *Df* produce compuestos con una baja actividad nematicida, cuando es cultivado en medio Cz-D; sin embargo, cuando es incubado en medio Cz-D+EP incrementa su producción de compuestos extracelulares con actividad nematicida que son vertidos en el medio. El EP del macerado de L<sub>3</sub> de *H. contortus* actúa como un agente elicitor de compuestos con actividad nematicida en el hongo *D. flagrans*.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PREVALENCIA DE *Haemonchus contortus* EN CORDEROS EN DOS ÉPOCAS DEL AÑO EN EL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA.

## PREVALENCE OF *Haemonchus contortus* IN LAMBS OF THE MUNICIPALITY OF CULIACAN, SINALOA.

Solis CJD\*<sup>1</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>, Castro del CN<sup>1</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>, Borbolla IJE<sup>1</sup>, Barraza TCL<sup>1</sup>, Portillo LJJ<sup>1</sup>,  
Quintero OI<sup>1</sup>, De Dios QCB, Villalba RYE, Castro del CN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. ncastro@uas.edu.mx

Palabras clave: *Haemonchus*, prevalencia, ovinos

### Introducción

Las ovejas por lo general son más propensas a parasitismo gastrointestinal, debido a su alimentación en pastos contaminados con larva 3 de nematodos (Tariq *et al.*, 2008), entre estos destacan *Haemonchus contortus* (*H. contortus*) el cual es un nematodo localizado en el abomaso, se alimenta de sangre de ovinos y caprinos, y puede encontrarse en otros rumiantes como bovinos (Getachew *et al.*, 2007), es un parásito gastrointestinal (Rinaldi *et al.*, 2015), de los más patógenos en ovejas (Besier *et al.*, 2016), que ocasiona pérdidas por morbilidad, mortalidad, reducción de la tasa de conversión alimenticia, escasa producción de lana, baja calidad de la carne y por los costos incurridos en el tratamiento y control (Tramboo *et al.*, 2015).

Su amplia distribución geográfica y resistencia contra las medidas de control antihelmínticas ha hecho esta especie una amenaza principal para la sostenibilidad de la ganadería de ovinos (Saccareau *et al.*, 2017), son más frecuentes durante la época de lluvia, con animales pastoreando en las primeras horas de la mañana (Mederos *et al.*, 2010), el clima predominante (temperatura, lluvia y humedad) y las prácticas de manejo en la crianza se consideran los principales factores que impulsan su distribución espacial y temporal de *H. contortus* (Rinaldi *et al.*, 2015). No obstante, la distribución espacial y temporal de *H. contortus* es heterogénea y depende de variables que difieren de un área a otra, incluso de una granja a otra (Musella *et al.*, 2011). Es importante monitorear la prevalencia y distribución de esta especie de helmintos para planificar mejor el control sostenible mediante el tratamiento dirigido y/o las estrategias de tratamiento selectivo (Kenyon *et al.*, 2009).

Estudios sobre la prevalencia de *H. contortus* en animales en pastoreo es alta en zonas de climas tropicales de ambos hemisferios (O'Connor *et al.*, 2006), los animales jóvenes y hembras preñadas son más susceptibles a los helmintos a diferencia de los animales adultos debido a su estado nutricional y su bajo nivel de inmunidad (Diniz *et al.*, 2014). En lo que compete a datos sobre prevalencia, en India Tramboo *et al.* (2015) reportaron el 55% de animales con *H. contortus* de un total de 1200, en otro estudio en México por Rojas *et al.* (2010) arrojó un 32% positivos de 219 muestreados, en la región de Sinaloa, Gaxiola *et al.* (2010) reportó una frecuencia de 17.5% de *Haemonchus* de un total de 120 ovinos bajo sistema de producción extensivo, así mismo en un estudio retrospectivo el cual abarco el período de 2008 a 2012, de un total de 516 muestras de ovinos, el nematodo se presentó en un 22.55% (Castro *et al.*, 2012). Respecto a las investigaciones antes mencionadas se orientan principalmente en animales adultos, por lo tanto es importante



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

conocer el comportamiento y prevalencia de este nematodo en animales jóvenes en relación a su salud y producción.

### Objetivo

El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *Haemonchus contortus* en corderos del municipio de Culiacán, Sinaloa durante época de verano y otoño.

### Materiales y métodos

#### Área de estudio

Se realizó en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México (24° 46' 13" LN y 107° 21' 14" LO). La región se caracteriza por tener un clima BS1 (h') w(w)(e), se define como clima semiseco, muy cálido, con lluvias en verano, según la clasificación de Köppen y modificada por García (1988); con temperatura promedio anual de 25,9°C, máxima de 30,4°C en junio y julio, y mínima de 20,6°C en enero; la humedad relativa promedio es de 68%, con máxima de 81% en septiembre y mínima de 51% en abril; la precipitación anual promedio es de 688,5 mm (CIAPAN, 2002).

#### Tipo de estudio y tamaño de muestra

Es un estudio observacional transversal. Se muestrearon 23 ranchos de ovinos. En el municipio de Culiacán se tienen registradas 125 Unidades de Producción Ovina (UPO) (SIAP, 2013), por lo que la muestra representó el 18.4% de las UPO. El muestreo fue por conveniencia de 10 sindicatos del municipio de Culiacán, para el muestreo de los animales se consideró la cantidad de adultos y se muestreo la cantidad de corderos que representará el 10% de los adultos en cada rancho. Se llevaron a cabo dos muestreos y se eligieron 760 corderos (380 por muestreo en cada época correspondiente a verano y otoño) de edades no mayores a 3 meses.

#### Recolección de muestras

Las heces se tomaron por enema y/o directamente en el recto con guante de látex, se identificaron individualmente, se refrigeraron en contenedores a 4°C con hielo y refrigerantes hasta su traslado al laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma de Sinaloa, donde se realizó el proceso y análisis de las muestras.

#### Análisis de laboratorio

La técnica utilizada para el diagnóstico de huevos de *Haemonchus* fue coproparasitoscópico mediante flotación de Faust (Zajac y Conboy, 2011). Se utilizó microscopio óptico con los objetivos de 10x y 40x, para la observación y detección. Para la identificación del huevo se utilizaron claves morfológicas de *Haemonchus* (Foreyt, 2001).

#### Análisis estadístico

Los corderos se consideraron positivos con al menos un huevo de *H. contortus*; la prevalencia se estimó como el número de ovinos positivos entre el total de ovinos muestreados. Los resultados se resumieron en tablas de contingencia 2x2 y se analizó con Prueba de Ji cuadrado. Se considero diferencia estadística con una  $P < 0.05$ .



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Resultados

Durante el período analizado la prevalencia general de *H. contortus* fue de 14.21% y de acuerdo a la época del año se observó en 7.89% y 20.52% para verano y otoño respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prevalencia de *Haemonchus* en verano y otoño en el municipio de Culiacán, Sinaloa.

Época del año	n	Positivos	Negativos
Verano	380	30 (7.89%) <sup>b</sup>	350
Otoño	380	78 (20.52%) <sup>a</sup>	302
Total	760	108	652

<sup>ab</sup> Literales diferentes en los porcentajes de positivos, indican diferencia estadística (Prueba de Ji cuadrado;  $P < 0.05$ ).

### Discusión

Estos resultados difieren con los de Vieira *et al.* (2014) que reportó en ovinos menores de 12 meses la prevalencia de 76.8% (146) de *H. contortus* de 190 animales muestreados en Brasil, a diferencia de este estudio que se muestrearon solo animales menores de 3 meses y en las épocas de verano y otoño, en la cual varía las condiciones climáticas idóneas para el parásito, por otra parte Broughan y Wall (2007) en Inglaterra, de 1000 corderos analizados el 10.5% fueron positivos al parásito concordando con los resultados de la presente investigación con un porcentaje 14.21%, en lo que comprende al continente asiático en India Trambo *et al.*, (2015) encontró un 55% de *Haemonchus* spp, de 1200 ovinos muestreados tanto adultos como jóvenes, y encontraron de manera general en ovinos jóvenes menores a 1 año, el orden Strongylida con 39.83%, coincidiendo con una prevalencia menor del 50% para animales jóvenes, así mismo en Nigeria, Solomon, Matur e Ibe (2014) encontraron una prevalencia de 10.90% en ovinos de 1 a 9 meses porcentaje similar al reportado a esta investigación. Por otra parte los resultados de la presente investigación en relación a la época del verano con 7.89% son similares a los descritos por Broughan y Wall (2007) con 10.5% en Inglaterra, aunque se puede atribuir a más baja prevalencia en verano en relación a las altas temperaturas que se presentan en este época en la zona, por lo cual el parásito disminuye su actividad, en otro estudio relacionado a épocas del año Trambo *et al.*, (2015) en la India informó la presencia del orden Strongylida (clasificación donde se encuentra *H. contortus*) 63.2% en verano y 58.4% en otoño, denotando diferencia con el actual trabajo, ya que en otoño se presentó una prevalencia de 20.52% siendo más alta que la del verano con 7.89%, esto se puede interpretar por las temperaturas favorables para el parásito que se presentan en la India a diferencia de las temperaturas máximas que se presentan en verano en el área de estudio, además del aumento de humedad en los pastos en la época de otoño.

### Conclusión

La prevalencia del nematodo *Haemonchus contortus* fue de 14.21%, destacando la temporada de otoño con mayor presencia del parásito; considerando que sólo se muestrearon corderos, este



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

hallazgo da indicios de que el parásito aún en edad joven del animal puede afectar su salud, por ello es importante implementar estrategias de prevención y control en corderos.

### Agradecimientos

A la Asociación de Criadores de Ovinos y Caprinos Culiacán AC. y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) México, por el apoyo económico para la formación de recursos humanos en este proyecto.

### Referencias bibliográficas

- Besier R. B., Kahn L. P., Sargison N. D., Van Wyk J. A. 2016. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Haemonchus contortus* and Haemonchosis - Past, Present and Future Trends 93: 95-143.
- Broughan J. M., Wall R. 2007. Faecal soiling and gastrointestinal helminth infection in lambs. *Int J Parasitol.* 37: 1255-68.
- Castro del C. N., Enríquez V. I., Barraza T. C. L., Solis C. J. D., Badilla M. C. N, Cota G. S. C., Quintero O. I., Borbolla I. J. E., Rubio R. M. C., Romo R. J. A. 2012. Estudio retrospectivo en la frecuencia de parásitos gastrointestinales en ovinos de Culiacán, Sinaloa. IX Congreso Universitario de Ciencias Veterinarias. Puerto Vallarta, Jalisco.
- Gaxiola C. S. M., Castro del C. N., Borbolla I. J. E., Cárcamo A. N. M., Cota G. S. C., Villalba R. J. E., Gaxiola M. J., Barraza T. C. L., Pérez C. J. A., Martínez T., Sosa G. C., Meza T. M. A., Mimiaga L. G., Rodríguez G. M. A. 2010. Frecuencia de parásitos gastrointestinales en ovinos del municipio de Culiacán, Sinaloa, México. 6° Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne. 2° Seminario Internacional de Avances en Producción Animal.
- Mederos A., Fernandez S., Vanleeuwen J., Peregrine A. S., Kelton D., Menzies P., Leboeuf A., Martin, R. 2010. Prevalence and distribution of gastrointestinal nematodes on 32 organic and conventional commercial sheep farms in Ontario and Quebec, Canada (2006-2008). *Vet Parasitol.* 170: 244-52.
- Rinaldi L., Vincenzo M. D. C., Hubertus H. L. C., Torgerson P. R., Fabien Mavrot, Theo W. F. M., Tom C. N. S., Annibale B. A. B., Cringoli G. 2015. *Haemonchus contortus*: spatial risk distribution for infection in sheep in Europe. *Geospatial Health* 9 (2): 325-331.
- Saccareau M., Salle G., Robert-Granie C., Duchemin T., Jacquet P., Blanchard A., Cabaret J., Moreno C. R. 2017. Meta-analysis of the parasitic phase traits of *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Parasites & Vectors* 10: 201.
- Solomon W. G. O., Matur B. M., Ibe K. C. 2014. Prevalence of Intestinal helminth in sheep and goat reared for slaughtering in Gwagwalada Abattoir, Abuja - Nigeria. *J Glob Pharm Sci.* 2(1):12-9.
- Tramboos S. R., Shahardar R. A., Allaie I. M., Wani Z. A., Bushra M. S. 2015. Prevalence of gastrointestinal helminth infections in ovine population of Kashmir Valley. *Veterinary World* 8 (10): 1199-1204.
- Vieira V. D., Vilela V. L. R., Feitosa T. F., Athayde A. C. R., Azevedo S. S., Souto D. V. D., Da Silveira G. L., De Melo L. R. B. 2014. Sheep gastrointestinal helminthiasis in the Sertao region of Paraíba State, Northeastern Brazil: prevalence and risk factors. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria* 23: 488-494.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**HALLAZGO A LA NECROPSIA DE *Oxyspirura* spp. EN GALLO DOMÉSTICO (*Gallus gallus domesticus*) EN LA RANCHERÍA LA HUASTECA, PERTENECIENTE AL MUNICIPIO DEL CENTRO EN TABASCO, MÉXICO.**

**THE DISCOVERY OF *Oxyspirura* APP IN THE NECROPSY TO DOMESTIC ROOSTER IN THE RANCHERIA LA HUASTECA IN THE MUNICIPALITY OF CENTRO, TABASCO, MEXICO.**

Carcamo MEJ<sup>1</sup>, Martínez SE<sup>1\*</sup>, Santamaría ME<sup>1</sup>, Arjona JG<sup>1</sup>, Ramos CB<sup>1</sup>, Ballesteros RG<sup>2</sup>

<sup>1</sup> División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

<sup>2</sup> Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

mvz.ems@hotmail.com

**PALABRAS CLAVE:** Oxyspirura, gallo, trópico.

### RESUMEN

*Oxyspirura* spp, es una filaria localizada en el globo ocular de varias aves, generalmente los hallazgos son a la necropsia y en muchas ocasiones en aves de traspatio, las cuales por lo común no son llevadas a consulta médica, a raíz de este hallazgo será importante identificar más casos de esta parasitosis, así como identificar al hospedero intermediario.

### INTRODUCCIÓN

Los parásitos son a menudo especies pequeñas y de corta duración que son escondidos en o dentro de sus anfitriones, así mismo son una importante fuente de información sobre el comportamiento de sus hospederos. Dentro de las parasitosis oculares en aves, se encuentran los thezalidos, como los oxyspiruridos, los cuales parasitan a gallinas, pavos, patos, palomas, codornices y muchas aves silvestres. En México, *Oxyspirura mansoni* ha sido reportada en el Carpintero de mejillas doradas, el Northern Harrier y el Búho reai, dicho parásito se localiza en la conjuntiva ocular, bajo la membrana nictitante, conducto naso lagrimal, en el interior de la córnea o de la órbita ocular y en el saco conjuntival Campillo (1999) Kaufman 1995) Olsen (1996) Taylor (2007)

Epidemiológicamente se localiza en regiones tropicales y subtropicales, así como en varias partes del mundo. El ciclo de este parásito es de tipo indirecto. Las hembras alcanzan a medir de 12-20 mm de longitud y los machos de 8 a 16 mm de longitud con dos espículas desiguales. Los huevos con la L-I son arrastrados hacia la faringe, deglutidos y eliminados con las heces, de donde los adquieren las cucarachas portadoras *Pycnoscelus surinamensis*, en las que alcanzan el estadio de L-III en tres semanas. La infección ocurre con la ingestión de cucarachas portadoras, En las aves causa ligeras molestias y, cuando la infección es intensa, ceguera y obstrucción del conducto naso lagrimal. (Campillo 1999)

Dentro de los daños patológicos que puede llegar a causar *Oxyspirura* se encuentran: Este parásito oftalmia grave, infección moderada e inflamación en el ojo y en la membrana nictitante, provocando oclusión en los espacios nasales. Taylor (2007) Hon YI EO y col. (2013)





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## OBJETIVOS

Identificar morfológicamente, los nematodos localizados en la órbita ocular del ave.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Animal:*

Gallo doméstico de 2kg aproximadamente, localizado en la ranchería la Huasteca del municipio del centro, bajo condiciones e instalaciones rurales.

### *Necropsia:*

Se utilizó la técnica de necropsia propuesta por Aluja y col. (2002)

### *Obtención del espécimen:*

Se obtuvieron cuatro especímenes del ojo derecho del ave, para la obtención de los parásitos se utilizaron pinzas quirúrgicas sin dientes de ratón, para poderlos extraer del globo ocular, posteriormente se procedieron a colocarlos en cajas de Petri para su lavado con solución salina fisiológica y posteriormente conservarlos en etanol al 70%, para poderlos decolorar con lactofenol.

La identificación del parásito se realizó en el laboratorio multidisciplinario de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la UJAT.

En la necropsia general del ave, no se encontraron otros parásitos, ni lesiones que indiquen alguna otra patología.

### *Identificación del espécimen:*

Para la identificación de las muestras se utilizaron las claves descritas por Anderson et al. (1974) donde se describen las especies de nematodos parásitos de vertebrados; Skrjabin (1969) que describe las especies dentro de los sub-órdenes Spirurata y Filariata, y la clave de Cram (1927) que contiene las especies parásitas en aves.

## RESULTADOS

Los cuatro nematodos recolectados fueron identificados como dos hembras y dos machos. Tenían un tamaño de cuerpo pequeño y redondo, cubierto con una delgada cutícula blanca. El extremo anterior estaba redondeado y el extremo posterior estaba afilado. La faringe era corta, más ancha en su extremo posterior, y se conectaba a un esófago en forma de palo.

Las medidas del cuerpo masculino fueron de 13 mm de largo por 275  $\mu$ m de ancho y en el otro 12.5 mm de largo por 270  $\mu$ m, según las observaciones visibles, los testículos ocupaban una cuarta parte de la longitud de su cuerpo. Su extremo posterior es afilado y cóncavo, con dos espículas desiguales que miden 350  $\mu$ m por 9  $\mu$ m y 212  $\mu$ m por 27  $\mu$ m, respectivamente. Las medidas de los cuerpos de las hembras fueron 14 mm de largo por 0,42 mm de ancho y 16 mm de largo por 0,430 mm de ancho, respectivamente. Las hembras se caracterizaron por tener dos úteros que ocupaban la parte posterior de sus cuerpos.

Es importante recalcar que el hallazgo de estos parásitos se realizó durante una práctica de la asignatura de Enfermedades parasitarias, por lo que el ave aparentemente no presentaba



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

manifestaciones de alguna enfermedad, por lo que no fue necesario realizar pruebas complementarias de laboratorio.

### CONCLUSIÓN

De acuerdo a las observaciones morfológicas, a las mediciones realizadas al espécimen y a la consulta especializada de la bibliografía, se llegó a la determinación que el espécimen encontrado pertenece al género y especie *Oxispirura mansoni*.

### IMPLICACIONES, AGRADECIMIENTOS Y FUENTES FINANCIADORAS

Se agradece a los alumnos del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia el interés por el aprendizaje, búsqueda y hallazgo de parásitos aun no descritos en el trópico húmedo, para estas actividades no se cuenta con ninguna fuente financiadora, sin embargo, la Institución facilita sus instalaciones para el desarrollo de las mismas.

### Referencias bibliográficas

- Cordero del C y Rojo V. (1999) Parasitología Veterinaria-. Cap. 43: Parasitosis sistémica. Pag.816-817
- Kassai T. (2002) Helmintología Veterinaria. Pág. 116-17
- Taylor M.A y col (2007) Veterinary Parasitology. Pág. 517-518
- Kaufmann J. (1995) Parasitic infections of domestic animals: A diagnostic manual. Pág. 392-393
- Hon YI EO y col. (2013) Nematodes in wild birds of the private conservation area "gotas de agua" jaen, cajamarca, Perú. Pag: 289 -310.
- Aluja A (2002) Técnicas de necropsia en animales domésticos 2da. Edición. Manual Moderno. México, D.F.

Figura 1(a) y 1(b) se puede observar el espécimen en el interior del globo ocular

Figura 2 (a) y 2 (b) Extremo anterior y posterior del espécimen.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SECCIÓN III. ARTRÓPODOS

**EFICACIA DE LOS ACARICIDAS CONTRA *Amblyomma mixtum* EN UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE BOVINOS DE DOBLE PROPÓSITO NATURALMENTE INFESTADOS EN VERACRUZ, MÉXICO.**

**EFFECTIVENESS OF ACARICIDES AGAINST *Amblyomma mixtum* IN A SYSTEM OF PRODUCTION OF DOUBLE PURPOSES NATURALLY INFESTED IN VERACRUZ, MEXICO.**

Barradas PFT<sup>1</sup>, Lagunes QRE<sup>2</sup>, Guajardo PR<sup>3</sup>, Castañeda ARO<sup>4</sup>, Rojas MC<sup>2</sup>, Álvarez MJA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Campo experimental "La Posta", INIFAP.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Sanidad Animal e Inocuidad (CENID-SAI) - INIFAP.

<sup>3</sup>Sitio experimental Teocelo, INIFAP.

<sup>4</sup>Campo experimental "Pichucalco", INIFAP.

fcobarradast@gmail.com

Palabras Clave: *Amblyomma mixtum*, acaricidas, Control integral.

### Introducción

La especie *Amblyomma mixtum*, anteriormente conocida como *Amblyomma cajennense*, es una garrapata común de zonas tropicales y subtropicales, su ciclo biológico es de 3 hospedadores parasitando una amplia variedad de reptiles, anfibios, mamíferos incluyendo al hombre. *A. mixtum* es de importancia económica en América ya que los estadios adultos se alimentan del ganado; el daño que causan se ve reflejado en pérdidas económicas directas en la producción de carne, productos lácteos y pieles de los bovinos (Guerrero *et al.*, 2002). Dentro de la cadena productiva, es la segunda garrapata de importancia médica y veterinaria ya que actúan como vectores de enfermedades zoonóticas emergentes y re-emergentes incluyendo la enfermedad de Lyme, Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas y otras Rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas como la Tularemia enzoótica. El principal método para reducir cargas parasitarias de *A. mixtum* es mediante el uso de acaricidas químicos convencionales. Sin embargo, para elegir el acaricida más eficaz en cada región es necesario llevar a cabo técnicas de diagnóstico de resistencia en laboratorio. Con esta acción, se contribuye al establecimiento de programas estratégicos de control de garrapatas con ciclo de vida monoxeno y heteroxeno (Guerrero *et al.*, 2002; Miller *et al.*, 2002; Natala *et al.*, 2005; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2006; Klafke *et al.*, 2017).

### Objetivo

Identificar las familias de acaricidas eficaces contra *A. mixtum* en un sistema de producción de doble propósito localizado en el Estado de Veracruz, mediante pruebas de diagnóstico de resistencia tradicionales a nivel de campo.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Materiales y métodos

El experimento se realizó en el Campo Experimental La Posta del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), localizado en el km 22.5 de la carretera federal Veracruz-Córdoba, en Paso del Toro, municipio de Medellín de Bravo, Veracruz, México, a 15° 18' latitud Norte, 96° 10' longitud oeste y una altitud de 12 msnm. La región tiene un clima tropical subhúmedo Aw1, con temperatura máxima, media y mínima de 35.3, 25 y 15 °C, respectivamente, una precipitación pluvial media anual de 1461 mm y humedad relativa de 77.4%.

Se utilizaron 42 bovinos de doble propósito (*Bos indicus* X *Bos Taurus*) infestados naturalmente con garrapatas; se utilizaron siete bovinos por grupo, los cuales fueron seleccionados aleatoriamente para formación de grupos experimentales. Los productos químicos utilizados en campo fueron: (Grupo 1) Amidinas 12.5%; (Grupo 2) Clorpirifos + Permetrina al 29%; (Grupo 3) Coumafos al 20%; (Grupo 4) Flumetrina al 3%; (Grupo 5) *Cympogon citratus*, *eucaliptus melliodora*, *citrus* spq. al 50%; (Grupo 6) Testigo. Para los baños garrapaticidas se utilizaron bombas de aspersion marca truper de 20 Litros. El conteo de garrapatas semi-repletas fue realizado en dos etapas, antes de la aplicación del producto y 7 días después de cada baño garrapaticida. El intervalo de baños fue de 14 días durante 105 días. La eficacia de los garrapaticidas en campo fue evaluada mediante la fórmula establecida por Cruz *et al.* (2015) y Corrêa *et al.* (2015). Finalmente, se realizó un análisis de varianza con bloques aleatorizados donde se consideraron a los tratamientos con los distintos productos empleados en la medición de la eficacia; así mismo se realizó una prueba de Tukey para identificar el producto con mayor eficacia.

### Resultados y discusión

Considerando que *A. mixtum* es una especie de garrapata de comportamiento biológico heteroxeno, establecer un programa estratégico de control, presenta un sin número de limitaciones. Sin embargo, se sabe que el método de mayor eficacia para el control de garrapatas es el control químico a base de acaricidas (Bittencourt *et al.*, 1989). En los resultados obtenidos en el presente ensayo se puede observar un efecto ixodicida de 58.3% con las amidinas, siendo el acaricida más eficaz y de 6.5% para la combinación de clorpirifos+permetrina 29% siendo el menos eficaz (Cuadro 1). Estos hallazgos presentan cierta semejanza con los reportados por Alonso-Díaz *et al.* (2013), donde encontraron evidencias de resistencia a diferentes familias químicas utilizadas para el control de *A. mixtum* en el Estado de Veracruz.

Con base a los resultados de la prueba de Tukey, se observa que el Grupo 2 (Clorpirifos + Permetrina 29%) muestra diferencias significativas con respecto al Grupo 1 (Amidinas 12.5%) ( $p= 0.0012$ ); al Grupo 4 (Flumetrina) ( $p= 0.0051$ ) y al Grupo 6 (Testigo) ( $p=0.0440$ ). Durante todo el experimento, se observó baja carga parasitaria en los diferentes grupos evaluados, sin embargo, ningún acaricida logró superar el 60% de eficacia, siendo los más altos en las familias de las amidinas y cipermetrina. El comportamiento de eficacia en campo está asociado al uso de diferentes herramientas en campo, desde considerar ciclo biológico de especie, aplicación de los productos (dosis y forma de aplicación), carga parasitaria y razas establecidas en los sistemas de producción (Rodrigues *et al.*, 2018).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 1. Eficacia de las familias químicas y promedio de garrapatas *A. mixtum* antes y después de los tratamientos en bovinos naturalmente infestados.

Actividad	Amidinas 12.5%	Clorpirifos + permetrina 29%	Coumafos 20%	Flumetrina 3%	Ecológico - <i>Cympogon citratus, eucaliptus melliodora, citrus</i> spq. 50%	Testigo
Antes del Baño	2.72 (±2.82) .4 - 8.2	4.2 (±4.6) 0.6 - 13.4	4.2 (±3.4) 0.4 - 8.6	5.0 (±5.9) 1.4 - 16.2	6.2 (±5.7) 0 - 14.2	2.4 (±2.1) 0 - 5.4
Después del Baño	0.9 <sup>ab</sup> (±1.1) 0 - 2.7	8.8 <sup>a</sup> (±10.2) 0.5 - 28.7	3.2 <sup>abc</sup> (±5.2) 0 - 12.7	1.9 <sup>a</sup> (±1.4) 0 - 3.5	6 <sup>a</sup> (±5.3) 0 - 14.2	3.1 <sup>a</sup> (±3.1) 0 - 8.2
Eficacia en campo	58.3%	6.5%	43.3%	48.7%	21.0%	

\*Letras diferentes representan significancia estadística para  $P < 0.05$ , ANOVA

Fernández-Salas *et al.* (2012), mencionaron que en el Estado de Veracruz existe resistencia a las amidinas en el 30% de los ranchos muestreados con antecedentes de sobrevivencia no mayor al 5% de las garrapatas involucradas en el estudio, sin embargo, *A. mixtum* mantiene una gran diversidad de hospedadores, limitando el contacto de los productos químicos en las fases inmaduras, lo que genera un comportamiento diferente en el desarrollo de resistencia a los acaricidas utilizados contra garrapatas con ciclo de vida monoxeno.

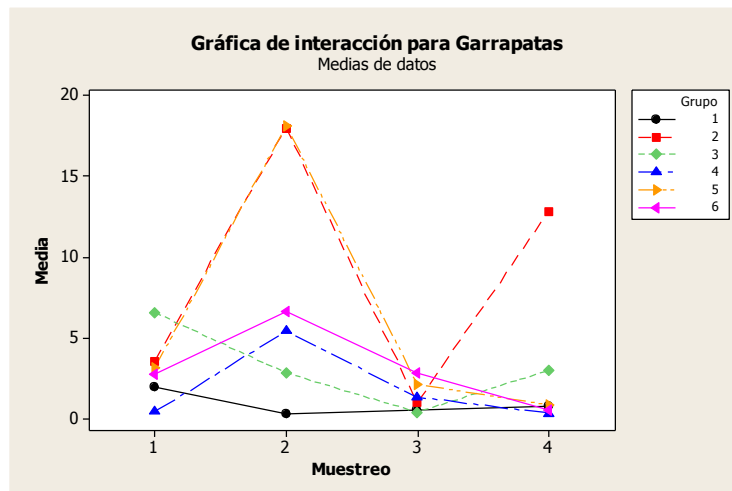


Figura 1. Comportamiento de carga parasitaria de *A. mixtum* en bovinos naturalmente infestados después de baño garrapaticida. (Grupo 1) Amidinas 12.5%, (Grupo 2) Clorpirifos + Permetrina al 29%, (Grupo 3) Coumafos al 20%, (Grupo 4) Flumetrina al 3%, (Grupo 5) Ecológico - *Cympogon citratus, eucaliptus melliodora, citrus* spq. al 50%, (Grupo 6) Testigo.

En la figura 1, se observa que el grupo 1 mantiene una menor carga parasitaria durante todo el experimento, y que el grupo 2 disminuye de manera drástica la carga parasitaria en la primera aplicación manteniéndose de esta forma durante todo el periodo experimental.

De acuerdo a la literatura, se sabe que se deben diseñar planes estratégicos de control que apunte no sólo a controlar eficazmente una especie de garrapata sino a utilizar los productos comerciales de manera racional con la finalidad de prolongar en tiempo la emergencia de la resistencia (Alonso-Díaz *et al.*, 2013). Esta forma tradicional de realizar el control de la garrapata ha demostrado no ser



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

sustentable a largo plazo, de ahí la importancia en desarrollar estrategias de control basadas en más de un método de control que coadyuve a la disminución de las poblaciones de garrapatas presentes en aquellas zonas de alta infestación.

### Conclusiones

Se concluye que las amidinas presentan la mayor eficacia contra garrapatas del género *A. mixtum* provenientes de bovinos establecidos en un sistema de doble propósito localizado en el Estado de Veracruz.

### Referencias bibliográficas

- Alonso-Díaz MA, Fernandez-Salas A, Martinez-Ibanez F, Osorio-Miranda J. 2013. *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) tick populations susceptible or resistant to acaricides in the Mexican Tropics. *Veterinary Parasitology*. 197:326-331.
- Bittencourt VREP, Massard CL, Grisi L. 1989. Atividade *in vitro* de alguns piretróides sintéticos no carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). *Pesquisa Agropecuaria Brasil*. 24:1193-1199.
- Corrêa RR, Lopes WDZ, Teixeira WFP, Cruz BC, Gomes LVC, Felipelli G, Maciel WG, Favero FC, Buzzulini C, Bichuetti MA, Soares VE, Costa, AJ. 2015. A comparison of three different methodologies for evaluating *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* susceptibility to topical spray compounds. *Veterinary Parasitology*. 207:115-124.
- Cruz BC, Lopes WDZ, Maciel WG, Felipelli G, Favero FC, Teixeira WFP, Carvalho RS, Ruivo MA, Colli MHA, Sakamoto CAM, Costa AJ, Oiveira GP. 2015. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200,500 and 630 µg/kg) in field studies in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 207: 309-317.
- Fernández-Salas ARI, Rodríguez-Vivas, RI, Alonso-Díaz MA, Basurto-Camberos H. 2012. Resistance of *Amblyomma mixtum* to amitraz and cypermethrin in tropical cattle farms in Veracruz, Mexico. *Journal Parasitology*. 98(5):1010-1014.
- Guerrero F, Li AY, Hernández RH. 2002. Molecular Diagnosis of Pyrethroid Resistance in Mexican Strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medicine Entomology*. 39(5): 770-776.
- Klafke G, Webster A, Agnol BD, Pradel E, Silva J, de la Canal LH, Becker M, Osório MF, Mansson M, Barreto R, Scheffer R, Souza UA, Bamberg V, dos Santos CJ, Reck J, Martins JR. 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. *Ticks Tick Borne Disease*. 8(1):73-80.
- Natala AJ, Agyei AD, Awumbila B. 2005. Susceptibility of *Amblyomma variegatum* ticks to acaricides in Ghana. *Experimental and Applied Acarology*. 3(3):259-268.
- Rodríguez-Vivas RI, Alonso-Díaz MA, Rodríguez-Arevalo F, Fragozo-Sanchez H, Santamaria VM, Rosario-Cruz R. 2006. Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the State of Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*. 1(36):335-342.
- Rodrigues, VS, Garcia MV, Cruz BC, Maciel WG, Zimmermann NP, Koller WW, Barros JC, Andreotti R. 2018. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. *Ticks and Tick-borne Disease*. 8(3):379-384.
- Miller JR, Davey RB, George JE. 2002. Modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to measure amitraz-susceptibility against Ixodidae. *Journal of Medicine Entomology*. 39(4):645-651.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## GEOREFERENCIACIÓN DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* DE BOVINOS EN EL ESTADO DE SINALOA

## GEOREFERENCING OF THE GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* OF CATTLE IN THE STATE OF SINALOA

Barraza TCL<sup>1\*</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>, Castro delCN<sup>1</sup>, Rodríguez GMA<sup>1</sup>, Portillo LJJ<sup>1</sup>, Solis  
CJD<sup>1</sup>, Gaxiola MJ<sup>1</sup>, Villalba RYE<sup>1</sup>, López ACV<sup>1</sup>, Borbolla IJE<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Sinaloa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
soilagaxiola@uas.edu.mx

Palabras claves: *R. microplus*, garrapata, Sinaloa, georeferenciación.

### Introducción

Las garrapatas son artrópodos y vectores de agentes patógenos en animales y humanos (Antunes *et al.*, 2016). Desempeñan un papel importante en la medicina humana y veterinaria como protozoarios, rickettsias, bacterias y virus (Sparagano *et al.*, 1999). *Rhipicephalus microplus* se considera como la garrapata parásito más importante económicamente en el mundo, se desarrolla en un solo huésped todas las etapas del ciclo de vida principalmente en el ganado bovino, afectando la producción ganadera, uno de los efectos es la reducción de ganancia de peso y producción de leche (Gaxiola *et al.*, 2010). El clima es una de las diversas causas de la aparición de enfermedades (Baylis, 2017). Los cambios temporales y espaciales en la temperatura, precipitación y humedad están ligados a los cambios climáticos los cuales repercuten en la ecología, biología de vectores y de huéspedes intermedios (Githeko *et al.*, 2000). En México como en otros países el movimiento de los animales en temporada de lluvias en las regiones del valle a la costa es una actividad que se realiza cada año, donde se alimenta principalmente de esquilmos provenientes de la agricultura, en Sinaloa es la principal actividad, el intercambio rotacional de sementales bovinos favorece la distribución de las garrapatas (Gaxiola *et al.*, 2008). La temperatura tiene un papel central en la regulación del ciclo de vida de la garrapata, incluyendo el desarrollo de las fases de muda (o huevos depositados) y los períodos en el que las garrapatas busca de un huésped en la vegetación (Estrada-Peña *et al.*, 2013). En Sinaloa se ha descrito la presencia de esta garrapata desde 1999 (Gaxiola *et al.*, 1999) del 2002 a 2008 observó el comportamiento de los factores climáticos sobre la presencia de la garrapata *R. microplus* en el municipio de Culiacán, Sinaloa, por un periodo de un año, donde mostraron mayor presencia de larvas y ninfas de *R. microplus*, en los meses de primavera y adultos en verano y otoño mostrando correlación con los factores climáticos de temperatura, humedad y evaporización (Gaxiola-Camacho *et al.*, 2008). La evaluación de los patrones de distribución geográfica de esta especie es importante para disminuir la colonización de garrapatas en el medio ambiente (Alcala-Canto *et al.*, 2018). La distribución de garrapatas *R. microplus* se describió en altitudes entre 2 y 2,600 msnm y 2000 y 3000 msnm en Colombia (López *et al.*, 1985,1989; Cortés *et al.*, 2010). El uso de sistemas de información geográfica para el mapeo espacio temporal de nuevas infestaciones es de gran ayuda para dilucidar el grado de infestación de los focos, la identificación de hatos adyacentes para la planeación de los esfuerzos de control y subsecuentemente la evaluación de la efectividad en el control (Temeyer *et al.*, 2012).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Objetivo

El objetivo de este trabajo fue identificar morfológicamente *Rhipicephalus microplus* en ganado bovino, en las regiones geográficas de la sierra, valle y costa de Sinaloa.

### Materiales y métodos

El estado de Sinaloa se ubica geográficamente en el noroeste del país mexicano, desde los 22° 31' hasta los 26° 56' de latitud norte y desde 105° 24' y 109° 27' de longitud oeste. Limita al norte con los estados de Sonora y Chihuahua, al sur con Nayarit, al este con Durango y al oeste con el Océano Pacífico. Con una superficie de 58,095 km<sup>2</sup> (Cifuentes y Gaxiola, 2003). Es un tipo de estudio observacional, transversal, descriptivo (Montenegro y Ozten, 2014). Como criterio de inclusión se colectaron garrapatas que se encontraban alimentándose de bovinos, en UPP localizadas en sierra (Badiraguato y Cosalá), valle (Guasave y Culiacán), costa (Elota) del Estado de Sinaloa, México. Se recolectaron al menos 5 garrapatas por bovino de las UPP (Unidades de Producción Pecuaria). Se obtuvieron con pinzas entomológicas de acuerdo a lo descrito por (Gallardo y Morales, 1999), se conservaron a -20°C hasta su procesamiento. El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. En Culiacán, Sinaloa, México. Se observaron en microscopio estereoscópico (MOTIC) utilizando claves morfológicas y la clave pictórica del manual de identificación taxonómica de garrapatas (CENAPA, 2004), se consideraron datos de acuerdo a los climáticos con la presencia de las garrapatas, para esto se recabó la información de temperaturas máximas, mínimas y precipitación consultadas de las estaciones meteorológicas de CAADES (Confederación de Asociaciones Agrícolas del Estado de Sinaloa), además de la georeferenciación latitud y longitud (Google Heart) de cada uno de las UPP de los municipios durante los años 2014 al 2018.

### Resultado y discusión

De las 2260 garrapatas colectadas en un 100 % correspondieron morfológicamente a *R. microplus*. Se consideraron temperaturas máximas y mínimas regiones localizadas en sierra (Badiraguato, Cosalá), valle (Guasave y Culiacán), costa (Culiacán, Elota) Sinaloa, México como se muestra la figura 1 y 2. Con temperaturas promedio máximas 39.1°C y mínimas de 9°C. Es aceptado generalmente que la temperatura y la humedad relativa tienen un efecto significativo en el ciclo de vida de las garrapatas *R. microplus*. La muda de larvas y ninfas también se ve afectada por la influencia de la temperatura y humedad relativa, mayor de 21°C a las larvas les lleva menos tiempo mudar que a las ninfas (Chilton *et al.*, 2000). En áreas del trópico donde las lluvias y humedad son altas *R. microplus* se reproduce continuamente durante todo el año, en áreas subtropicales las garrapatas tienen un ciclo estacional muy marcado. La vegetación es también un factor importante de distribución e influye en el ciclo biológico en estas zonas (Estrada-Peña, 2001). La producción de huevos es constante en el rango de temperatura de 16 a 33°C, de forma empírica, el clima, principalmente la temperatura, afecta la supervivencia de las garrapatas (Ogden *et al.*, 2008). La infestación por *R. microplus* en trópico húmedo de mayo a septiembre es de mayor infestación (Gaxiola *et al.*, 2010; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2007). En este estudio se recolectaron garrapatas *R. microplus* de altitudes 7 a 959 msnm. En Colombia López *et al.*, (1985,1989) registraron la distribución de garrapatas *R. microplus* en altitudes entre 2 y 2,600 msnm, así mismo (Cortés *et al.*, 2010) reportaron la presencia de *R. microplus* en altitudes de 2000 y 3000 msnm. Alcalá-Canto *et al.*





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGIA VETERINARIA

(2018) en un estudio geoespacial de 5,751 localidades en México con la presencia de *R. microplus* Estados con diferentes latitudes y altitudes, se encuentra la región noreste de México, donde una de las actividades más importantes es la producción y exportación de ganado a Estados Unidos de América. Con respecto a la precipitación pluvial esta tiene un aumento significativo en Culiacán en septiembre a octubre del 2018 esto debido a la tormenta tropical 19-E, que causo inundaciones en la ciudad de Culiacán. Alcalá-Canto *et al.* (2018) describe como regiones más adecuadas para el desarrollo de *R. microplus* los Estados; Veracruz, Tabasco, Tamaulipas, Campeche, Yucatán y Quintana Roo, en este estudio Sinaloa no se considera adecuada, para el desarrollo de esta garrapata, sin embargo la presencia de *R. microplus* está reportada por Gaxiola *et al.* (1999) y del 2002 al 2008 se describió su dinámica estacional encontrándose las fases de larva, ninfa y adultos durante todo el año (Gaxiola *et al.*, 2008).



Figura 1. Área de estudio y Georeferenciación de los sitios sierra, valle y costa de colecta de garrapatas en ganado bovino de municipios de Sinaloa.

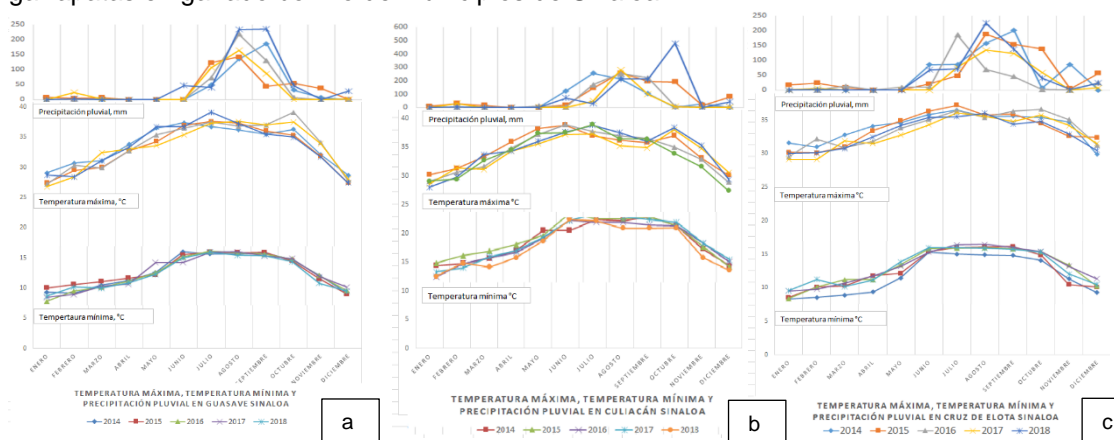


Figura 2. Temperaturas máximas y mínimas, precipitación pluvial del 2014 al 2018 en a) Guasave, b) Culiacán, c) Elota

El comportamiento de las temperaturas máximas y mínimas en Culiacán, Guasave y Elota muestra una variación mínima, mantiene un patrón similar en los cinco años analizados como se muestra en



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

figura 2. En las últimas décadas, la distribución de garrapatas de *I. ricinus* se ha expandido 400 km hacia el norte y arriba en la elevación en Noruega, y se han registrado aumentos similares en la elevación y latitud en otros lugares de Europa (Temeyer *et al.*, 2012). El Clima principalmente en regiones tropicales, subtropicales y ambientes templados y áridos, puede proporcionar un hábitat adecuado para esta especie de garrapata. El Estado de Sinaloa debe considerarse como adecuado para el desarrollo de *R. microplus* por su presencia en las latitudes de la sierra, valle y costa.

### Conclusión

La presencia de las garrapatas *Rhipicephalus microplus* en el ganado bovino en el Estado de Sinaloa por sus condiciones climáticas y regiones geográficas sierra, valle costa es apta para su desarrollo, lo cual es un referente para predecir las enfermedades en animales domésticos y silvestres, así como el control de vectores.

### Referencias bibliográficas

- Estrada-Peña A. 2001. Climate warming and changes in habitat suitability for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Central América. *J. Parasitol.* 87(5):978- 987.
- Estrada-Pena, A., Estrada-Sanchez, A., Estrada-Sanchez, D., de la Fuente, J. 2013. Assessing the effects of variables and background selection on the capture of the tick climate niche. *Int J Health Geogr*, 12, 43. doi:10.1186/1476-072X-12-43
- Gaxiola-Camacho S, García-Vázquez Z, Cruz-Vázquez C, Portillo-Loera J, Vázquez-Peláez C, Quintero-Martínez MT, Rosario-Cruz R, 2009. Comparison of efficiency and reproductive aptitude indexes between a reference and field strains of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, in Sinaloa, Mexico. *Rev Bras Parasitol Vet* 18:9-13.
- Gaxiola-Camacho Soila Maribel, García-Vázquez Zeferino, Portillo Loera Jesús José, Vázquez-Pelaéz Carlos, Quintero-Martínez María Teresa, Rosario-Cruz Rodrigo, Cruz Vázquez Carlos, Borbolla Ibarra Jaime Eleazar. 2010. Etapa parasítica de *Boophilus microplus* en bovinos del estado de Sinaloa, México y su relación con factores climáticos. 6 seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne. 2 Seminario Internacional de Avances en Producción Animal. 11 y 12 de marzo 2010.
- Gaxiola-Camacho Soila Maribel, García-Vázquez Zeferino, Vázquez Peláez Carlos., Rosario Cruz Rodrigo. 2008. Dinámica estacional de la garrapata *Boophilus microplus* en bovinos del estado de sinaloa. Tesis de doctorado. UNAM.
- Gallardo JS., Morales SJ., 1999. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): Preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. *Bioagro*, 11(2): 77-87.
- Githeko A.K., Lindsay S.W., Confalonieri U.E., Patz J.A., 2000. Climate changes and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ*, 78, 1136-47
- Ogden NH, Bigras-Poulin M, Hanincova K, Maarouf A, O'Callaghan CJ, Kurtenbach K. 2008. Projected effects of climate change on tick phenology and fitness of pathogens transmitted by the North American tick *Ixodes scapularis*. *J Theor Biol.*;254(3):621-32.
- Randolph SE, Rogers DJ. 2000. Fragile transmission cycles of tick-borne encephalitis virus may be disrupted by predicted climate change. *Proc Biol Sci.*; 267(1454):1741-4.
- Sparagano O, Jongejan F. 1999. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. *Parassitologia.* ;41 Suppl 1:101-5.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Temeyera Kevin B., Andrew C. Chena, Ronald B. Daveyb, Felix D. Guerrero, J.M. Howella, Diane M. Kammlaha, Andrew Y. Lia, Kimberley H. Lohmeyera, Pia U. Olafsona, Adalberto A. Perez de Leona, Pamela L. Phillipsa, Joe M. Pounda, and J.B. Welcha. Rev Mex Cienc Pecu 2012;3 Nuevos enfoques para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Novel Approaches for control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Supl 1):25-4025



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## TIPIFICACIÓN FUNCIONAL PROTEÓMICA DE LA MEMBRANA INTESTINAL DE *Amblyomma mixtum*

Espinosa IGM<sup>1</sup>, De la Cruz HNI<sup>1</sup>, Lagunes QRE<sup>2</sup>, Romero SD<sup>4</sup>, De La Fuente GJ<sup>3</sup>, Merino CJO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km. 5, Carretera Victoria-Mante, Cd. Victoria, Tam., México. CP 87000.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP. AP 206, Civac, Jiutepec, Mor., México. CP 62550.

<sup>3</sup>SaBio. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC-CSIC-UCLM-JCCM, Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, España.

<sup>4</sup>Laboratorio de Parasitología. UD PZTM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, México.

mero840125@hotmail.com

Palabras clave: Proteómica, Intestinal, *Amblyomma*.

### Introducción

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados que parasitan a vertebrados (mamíferos, aves y reptiles) en todo el mundo, y aun cuando son considerados el segundo vector transmisor de enfermedades humanas después de los mosquitos (Ma *et al.*, 2016) es el artrópodo de mayor importancia médica y veterinaria por su capacidad de transmitir virus, bacterias y protozoarios al ganado, seres humanos y animales de compañía (Otranto *et al.*, 2014). Existen tres familias de garrapatas, *Ixodidae*, *Argasidae* y *Nuttalliellidae* y en general tienen tres estadios básicos (larva, ninfa y adulto), en los cuales se alimentan de una diversidad de hospederos. De acuerdo con el número de hospederos en los que cumplen su ciclo de vida, las garrapatas se clasifican en: Monóxenos que cumplen todo su ciclo biológico en un solo hospedero o heteróxenos que se alimentan de 2 o más hospederos (Maruyama *et al.*, 2010).

La familia *Ixodidae* tiene 442 especies de garrapatas pero las más importantes son: *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* y *Boophilus*, aunque la especie *Boophilus* se ha colocado como subgénero de *Rhipicephalus* (Jongejan and Uilenberg, 2004). En México las especies *Rhipicephalus microplus*, *R. annulatus*, *R. sanguineus*, *Amblyomma mixtum*, *A. americanum*, *A. maculatum*, *A. imitator*, *A. triste*, *Dermacentor variabilis*, *D. occidentalis*, *D. nigrolineatus*, *D. albipictus* y *Anocentor nitens* son de suma importancia para el ganado bovino (CENAPA, 2004). El género *Amblyomma* cuenta con 129 especies, son garrapatas comunes en zonas tropicales y subtropicales, su ciclo biológico es de 3 hospederos parasitando una amplia variedad de mamíferos, reptiles y anfibios. Sin embargo, algunos estadios inmaduros infestan aves lo que les ayuda a la diseminación y dispersión (Guzman-Cornejo *et al.*, 2011). Se caracterizan por tener piezas bucales largas, ojos y por su escudo colorido, son parásitos heteróxenos y se clasifican como Longirostrata por su hipostoma largo que puede penetrar la dermis del huésped, esta característica puede inducir abscesos debido a infecciones bacterianas secundarias.

Las especies *Amblyomma maculatum*, *A. americanum* y *A. mixtum* son de importancia económica en América ya que los estadios adultos se alimentan del ganado, causando pérdidas económicas directas



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

en la producción de carne, productos lácteos y cuero en la ganadería. Esta especie se distribuye desde el suroeste de Texas, México y centro América y algunas partes del sur de América se encuentra en una gran cantidad de animales como aves, mamíferos y reptiles durante todas sus etapas de desarrollo (Denardi *et al.*, 2004).

Dentro de los distintos métodos de control de garrapatas se encuentra el control químico, control biológico y el control inmunológico. Sin embargo, el control de las infestaciones por estos parásitos ha sido difícil ya que la garrapata tiene pocos enemigos naturales, una manera de control es la modificación del hábitat de las garrapatas que incluye el corte y quema de la vegetación, tratamiento con herbicidas y el drenaje de zonas húmedas, pero los efectos son a corto plazo y pueden ocasionar graves daños ecológicos en algunas áreas (de la Fuente *et al.*, 2007). Los métodos de control químico tienen como función romper los ciclos de vida de las garrapatas a través de la aplicación de ixodicidas, sin embargo, ha tenido limitada eficacia en la reducción de garrapatas y suele acompañarse de inconvenientes como el fenómeno conocido como resistencia, contaminación ambiental, contaminación de leche y carne, toxicidad en animales y humanos. Estos resultados refuerzan la necesidad para encontrar alternativas como el control inmunológico. El control por vacunación tiene la ventaja de ser rentable, reduce la contaminación ambiental y la prevención de resistencia, su objetivo principal es el control de infestaciones de vectores y las enfermedades transmitidas por estos, el efecto de las vacunas podría obtenerse a través de la reducción de las poblaciones de vectores, la exposición de patógenos, reducción de la capacidad del vector para la transmisión de patógenos y una combinación de estos factores (Merino *et al.*, 2013). Sin embargo, su desarrollo ha sido lento, debido que las vacunas generadas tienen especificidad por alguna especie de garrapata y el ganado bovino no solo es infestado por una, sino dos o más especies de garrapatas. Por lo tanto, el presente trabajo ayuda al desarrollo de vacunas y genera una base sólida de información para conocer las proteínas presentes en estas especies lo que ayudará a contribuir en el desarrollo de futuras vacunas de amplio espectro.

### Objetivo general

Tipificar las proteínas de membrana intestinal que se encuentren conservadas en *Amblyomma mixtum*.

### Objetivos específicos

Obtener el estadio adulto de *A. mixtum* mediante la infestación en bovinos.

Obtener proteínas del intestino medio de las garrapatas.

Analizar que proteínas se encuentran conservadas en las células epiteliales del intestino.

### Materiales y métodos

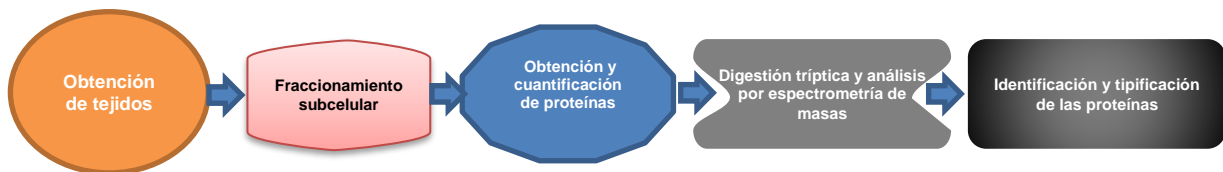
La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Parasitología y Biología molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Dr. Norberto Treviño Zapata, perteneciente a la Universidad Autónoma de Tamaulipas y en el Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos de Ciudad Real España, con apego a las normas metodológicas, científicas y éticas de acuerdo a los artículos 53 y 54 del código de ética de Medicina Veterinaria y Zootecnia vigente en México, justificando ampliamente el protocolo ante el comité de bioética y científico, como lo establecen los artículos 87, 89, 90, 92 y 105 del mismo código, utilizando el número mínimo de animales basado en



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

un modelo estadístico y procurando ante todo bienestar de los animales, apegado a la NOM-062-ZOO-1999.

Se utilizó la cepa de garrapatas *A. mixtum* se “La Gaviota” establecida a partir de hembras adultas colectadas en Soto la Marina, Tamaulipas. La alimentación de garrapatas se llevó a cabo sobre tres bovinos hembra, los animales fueron de razas europeas de aproximadamente 6 meses de edad al inicio del experimento, alimentados dos veces al día con alimento comercial con 16% de proteína y agua *ad libitum* al día en bebederos de acceso. Una vez alimentadas las garrapatas se llevarán al laboratorio para ser descontaminadas con agua desionizada, serán secadas con papel filtro y finalmente colocadas en papel de cera. Una vez limpio el ejemplar se disectaron para obtener muestras para su procesamiento de acuerdo con el siguiente diagrama:



## Resultados

Se obtuvieron 90 garrapatas adultas parcialmente alimentadas, se diseccionaron para la toma de tejidos de los cuales se obtuvieron 177.15 µg. De estos se extrajeron proteínas totales para posteriormente realizar la ontología de las proteínas totales y las proteínas exclusivas que se encuentran en el tejido, mediante el programa Blast2Go. Una vez obtenidas se clasificaron de acuerdo con su proceso biológico. Dicha clasificación generó 9 grupos los cuales se mencionan en la figura 1.

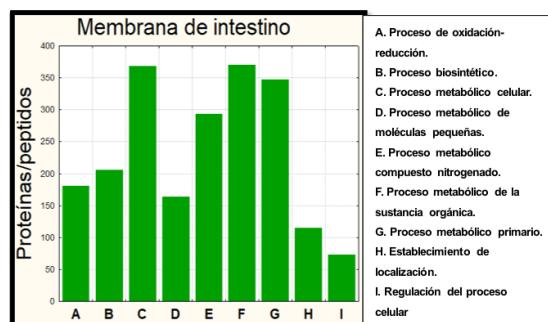


Figura 1: Proceso biológico de las proteínas totales de membrana de intestino de la garrapata *A. mixtum*.

## Discusión y conclusiones

El propósito de esta investigación fue obtener el estadio adulto de *A. mixtum* mediante la infestación en bovinos e identificar las proteínas del intestino de esta especie que se encuentran conservadas en la membrana, dentro de los resultados mostrados en este estudio se pudo observar que el proceso metabólico celular, el metabólico de sustancia orgánica y el proceso metabólico primario son los 3 procesos con mayor cantidad de proteínas.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

La expresión de dichas proteínas en el intestino al igual que la glándula salival tiene una relación con dichos procesos pues son dos órganos a través de los cuales la garrapata interactúa con su huésped y con patógenos, por lo tanto es probable que la alimentación aumente el estrés mecánico sobre las células epiteliales del intestino medio, especialmente porque las garrapatas duras, a diferencia de los mosquitos y muchos otros vectores de enfermedades, digieren la sangre dentro del entorno intracelular de las células epiteliales intestinales (Schwarz *et al.*, 2014).

Finalmente, las garrapatas son fuente importante de morbilidad y mortalidad tanto en salud pública como en medicina veterinaria. Por lo tanto, la caracterización proteómica del intestino es clave en la identificación de proteínas potenciales para antígenos que puedan controlar las infestaciones por garrapatas y la infección por patógenos que estas transmiten, por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo son de suma importancia y los análisis posteriores de estas proteínas serán la base para el desarrollo de futuras vacunas para el control de estos ectoparásitos.

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y la Secretaría de Educación Pública a través del proyecto CB-2015-01- 255205-019 “Caracterización proteómica de *Rhipicephalus microplus*, *R. annulatus* y *Amblyomma cajennense* para el control de infestaciones en bovinos” aprobado en la convocatoria SEP-CONACYT 2015. Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación.

### Referencias bibliográficas

- CENAPA, Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. 2004. Manual de identificación taxonómica de garrapatas.
- de la Fuente, J., K. M. Kocan, and E. F. Blouin. 2007. Tick vaccines and the transmission of tick-borne pathogens. *Veterinary Research Communications* 31:85-90. doi: 10.1007/s11259-007-0069-5
- Denardi, S. E., G. H. Bechara, P. R. de Oliveira, E. T. Nunes, K. C. Saito, and M. I. C. Mathias. 2004. Morphological characterization of the ovary and vitellogenesis dynamics in the tick *Amblyomma cajennense* (Acari : Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 125(3-4):379-395. (Article) doi: 10.1016/j.vetpar.2004.07.015
- Guzman-Cornejo, C., R. G. Robbins, A. A. Guglielmono, G. Montiel-Parra, and T. M. Perez. 2011. The *Amblyomma* (Acari: Ixodida: Ixodidae) of Mexico: Identification keys, distribution and hosts. *Zootaxa* (2998):16-38.
- Jongejan, F., and G. Uilenberg. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology* 129:S3-S14. (Article) doi: 10.1017/s0031182004005967
- Ma, M. L., Z. Chen, A. H. Liu, Q. Y. Ren, J. L. Liu, Z. J. Liu, Y. Q. Li, H. Yin, G. Q. Guan, and J. X. Luo. 2016. Biological parameters of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) fed on rabbits, sheep, and cattle. *Korean Journal of Parasitology* 54(3):301-305. (Article) doi: 10.3347/kjp.2016.54.3.301
- Maruyama, S. R., E. Anatriello, J. M. Anderson, J. M. Ribeiro, L. G. Brandao, J. G. Valenzuela, B. R. Ferreira, G. R. Garcia, M. P. J. Szabo, S. Patel, R. Bishop, and I. K. F. de Miranda-Santos. 2010. The expression of genes coding for distinct types of glycine-rich proteins varies according to the biology of three metastrongyle ticks, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma cajennense*. *Bmc Genomics* 11:17. (Article) doi: 10.1186/1471-2164-11-363



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- Merino, O., P. Alberdi, J. M. P. de la Lastra, and J. de la Fuente. 2013a. Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3doi: 10.3389/fcimb.2013.00030
- Otranto, D., F. Dantas-Torres, A. Giannelli, M. S. Latrofa, A. Cascio, S. Cazzin, S. Ravagnan, F. Montarsi, S. A. Zanzani, M. T. Manfredi, and G. Capelli. 2014. Ticks infesting humans in Italy and associated pathogens. *Parasites & Vectors* 7:9. (Article) doi: 10.1186/1756-3305-7-328.
- Schwarz, A., S. Tenzer, M. Hackenberg, J. Erhart, A. Gerhold-Ay, J. Mazur, J. Kuharev, J. M. C. Ribeiro, and M. Kotsyfakis. 2014. A Systems level analysis reveals transcriptomic and proteomic complexity in *Ixodes ricinus* midgut and salivary glands during early attachment and feeding. *Molecular & Cellular Proteomics* 13(10):2725-2735. doi: 10.1074/mcp.M114.039289





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO ACARICIDA *in vitro* E *in vivo* DE HONGOS *Metarhizium anisopliae* NATIVOS DE SUELOS GANADEROS CONTRA *Rhipicephalus microplus*

### *In vitro* AND *in vivo* ACARICIDAL EFFECT OF *Metarhizium anisopliae* NATIVE FROM CATTLE FARMS SOILS AGAINST *Rhipicephalus microplus* TICKS

Fernández SA<sup>1\*</sup>, Alonso DMÁ<sup>1</sup>, Alonso MRA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, Universidad Nacional Autónoma de México, <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.  
mvz\_salasuv@hotmail.com

Palabras clave: control biológico, garrapatas, entomopatógenos

#### Resumen

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) evaluar el efecto acaricida *in vitro* de seis cepas de *Metarhizium anisopliae* nativas de suelos de unidades de producción bovina (UPB) contra *Rhipicephalus microplus* y 2) desafiar la mejor cepa en una evaluación en campo, con animales naturalmente infestados de garrapatas.

Las cepas se ajustaron a  $1 \times 10^8$  conidias/ml y se utilizó la técnica de inmersión de adultas para evaluar su efecto acaricida. 10 garrapatas fueron tratadas con los hongos y 10 garrapatas solo con agua destilada durante un minuto. Las garrapatas fueron examinadas durante 20 días y la masa de huevos de cada grupo fue colectada y pesada. Para la parte en campo, la cepa MaV25 fue seleccionada de acuerdo a diversos estudios. Una suspensión de  $1 \times 10^8$  conidias/ml de MaV25 se aplicó por aspersión en vacas infestadas naturalmente. Los tratamientos fueron aplicados los días 0, 15, 30, 45 y 60 y el conteo de garrapatas se realizó al día 0, 1, 3, 5, 7, y 14, postratamiento.

El efecto *in vitro* de las cepas MaV22, MaV26 y MaV55 fue del 100 % de mortalidad al día 14. El efecto de mortalidad de las cepas MaV05, MaV09 y MaV22 superó el 90 % desde el día 12. MaV55 inhibió la oviposición en 54.86 % y 55.86 % en garrapatas resistentes y susceptibles, respectivamente. La cepa MaV25 mostró una mortalidad del 100 % al día 18 e inhibió entre el 20 y 23 % la eclosión de huevos. En campo, no se encontró efecto estadísticamente significativo de MaV25, sin embargo, la cepa MaV25 mostro efectividad de hasta el 83 % a partir del 7° día de la tercera aplicación.

Se reporta por primera vez el efecto de hongos entomopatógenos aislados de UPB contra garrapatas *R. microplus*. Todas las cepas mostraron un alto efecto acaricida *in vitro* y sobre la reproducción. La cepa MaV25 tuvo un comportamiento muy variable durante el experimento en campo, mostrando eficacia del 0 % hasta del 83 %.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE IXODICIDAS SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EN GANADO BOVINO DEL MUNICIPIO DE GENERAL BRAVO, NUEVO LEÓN.**

**EVALUATION OF THE EFFICACY OF IXODICIDES IN *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* IN CATTLE OF THE MUNICIPALITY OF GENERAL BRAVO, NUEVO LEÓN.**

García PR <sup>1\*</sup>, Hernández EJJ <sup>1</sup>, Pérez ACH <sup>1</sup>, Moreno DG <sup>1</sup>, Villarreal VJP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, Calle Francisco Villa S/N Col. Ex Hacienda el Canadá., General Escobedo; Nuevo León, México C.P. 66050. qbpromario@gmail.com.

Palabras clave: Resistencia, ixodicidas, garrapata.

## Introducción

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos, su importancia ha sido reconocida por su gran impacto debido a sus efectos directos e indirectos en la salud humana y animal (Guglielmone, et al. 2004). La especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, también llamada garrapata de los bovinos, se distribuye entre el paralelo 32° Norte y 35° Sur (Estrada, et al. 2006), abarcando zonas tropicales, templadas y áridas, con una distribución del 53% del territorio nacional y con el 65.96% en fase de control (SENASICA, 2016), presentando hasta cuatro generaciones y pérdidas de hasta 48 millones de dólares por año en México (Vega M. 1992).

En México, se sabe que en la mayoría de los hatos de producción de carne, el control de *R. (B.) microplus*, es realizado exclusivamente con el uso de garrapaticidas sintéticos, sobre todo organofosforados, piretroides y amidinas (Rodríguez, et al. 2006). El surgimiento de la resistencia a los ixodicidas, viene generando serios problemas en la producción de bovinos, con una tendencia mundial. La causa principal del desarrollo de la resistencia, está asociada a la expresión de factores intrínsecos o biológicos relacionados con la garrapata, como lo son; las mutaciones génicas (alelos dominantes resistentes) dentro de las poblaciones, resultando en una insensibilidad del sitio de acción y cambios enzimáticos en el metabolismo (Guerrero, et al. 2001).

El factor biológico, se debe principalmente al factor operacional relacionado con la acción del hombre en el control de la garrapata, debido a que la mayoría de los productores usa el producto químico como única herramienta para el control de este ectoparásito, lo que conlleva a la resistencia por presión de selección, ya que se utiliza de una manera equivocada, un ejemplo es la utilización excesiva de ixodicidas sin conocer la biología y ecología de la garrapata, así como la falta de detección de la resistencia (Rodríguez et al., 2006), lo que conlleva a uno de los mayores problemas en la ganadería mexicana. Los piretroides son la familia de ixodicidas que presenta el mayor problema de resistencia, ya que del 66 al 95% de los ranchos en México presentan garrapatas resistentes. Por otro lado, para mejorar la eficacia de los acaricidas en el control de garrapatas en los bovinos se han usado mezclas de acaricidas. (Rodríguez et al., 2006).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de un piretroide y una asociación de piretroide-organofosforado sobre una población de *R. (B.) microplus* de ganado bovino del municipio de General Bravo, Nuevo León, por la Prueba de Inmersión de Adultas (PIA).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Materiales y métodos

### Obtención de garrapatas

En mayo de 2019, se colectaron 100 teleoginas en el municipio de General Bravo (25°42'07.6" N y 100°11'33.9" W) en Nuevo León, pertenecientes a un rancho de bovinos de carne de la raza Brangus rojo. Los especímenes se colectaron de manera manual directamente del cuerpo de los bovinos infestados de forma natural, con al menos 21 días sin tratamiento ixodicida y se transportaron en un contenedor rotulado, con algodón húmedo.

### Prueba de inmersión de adultas (PIA).

Al día siguiente de la colecta, en el laboratorio de una salud de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, se realizó la Prueba de Inmersión de Adultas (PIA) modificada, descrita por Drummond et al. (1973). Para la evaluación de la efectividad biológica, las teleoginas, se lavaron con agua destilada y se seleccionaron según su estado y morfología. Posteriormente se pesaron y se colocaron en grupos de diez teleoginas por grupo con pesos homogéneos, dando 6 grupos con un total de 60 teleoginas, ya que la prueba se realizó por duplicado. Los principios activos de los ixodicidas utilizados fueron: Cipermetrina y una asociación Clopirifós y Permetrina, los cuales se diluyeron en agua, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Después de los pesajes, cada grupo fue sumergido por cinco minutos en soluciones que contenían la dilución de los ixodicidas. Para el grupo control se utilizó agua destilada. Después de la inmersión, cada grupo de teleoginas se secó y se fijó en una cinta doble cara en el fondo de una placa de Petri previamente identificadas, con la apertura genital y las piezas bucales volcadas fuera de la cinta para que la postura de los huevos fuera realizada en los bordes de la placa. Las placas fueron llevadas a una incubadora BOD (Demanda Bioquímica de Oxígeno) climatizada a una temperatura de 27 ° C (± 1 °C) y una humedad relativa superior al 80% para la ovoposición. Después de 7 días de incubación, se evaluó la mortalidad de las teleoginas y a los 14 días se evaluó la masa de huevos fértiles de cada grupo, al día 30 se efectuó el análisis de la eclosión de las posturas. A partir de estos datos se evaluó el índice reproductivo (IR) y el índice de eficacia (IE) de cada producto comercial, a través de las siguientes fórmulas:

IR = Índice de Reproducción:

$$IR = \frac{(\text{Peso de huevos}) (\% \text{ eclosión}) (20,000)}{\text{Peso de la hembra adulta}}$$

IE = Índice de Eficacia %:

$$IE = \frac{(\text{IR del grupo control} - \text{IR del grupo tratado})}{\text{IR del grupo control}} \times 100$$

## Resultados y discusión

Como se puede observar en la tabla 1, la mayor mortalidad de las teleoginas mediante la PIA, se observó con la asociación piretroide-organofosforado. Con respecto a los parámetros reproductivos, este también tuvo un mayor efecto negativo en comparación al piretroide. Los Índices de Eficacia (IE) de los ixodicidas mostrados en la tabla 2, demuestran la baja eficiencia tanto del piretroide, como de la asociación piretroide-organofosforado sobre la población probada. Según la norma oficial mexicana NOM-006-ZOO-1993, la eficacia de los acaricidas debe ser mayor o igual al 98%. En



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

México, el principal método para controlar *R. (B.) microplus* es a través del uso de organofosforados, piretroides y amitraz (Rodríguez, et al. 2006), sin embargo, sus eficacias se han reducido debido a la presencia de cepas resistentes a estos químicos (Cabrera et al., 2008). En el estado de Nuevo León se conoce la presencia de garrapatas resistentes a estos ixodicidas, sin embargo, estudios realizados entre los años 2015 y 2017 por el Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA) en el estado de Nuevo León, no indican que haya una baja eficacia del piretroide y de la asociación piretroide-organofosforado (Neri S. 2018), lo cual difiere a nuestro estudio, lo que demuestra que la mayoría de los productores del estado, no envían muestras para el diagnóstico de resistencia cuando se tiene un problema de resistencia importante. Por otro lado, los resultados en este estudio concuerdan con lo mencionado por Jonsson (1997), que describe que la baja eficacia de los acaricidas varía según las regiones, dependiendo principalmente de factores como; nichos ecológicos, el manejo del ganado y el uso de acaricidas. En este caso, los IE obtenidos pueden deberse a la presencia de fallas del manejo como realizar una aplicación inadecuada, teniendo una pérdida en la eficacia con el tiempo, concordando con Farías et al., (2008). En nuestro estudio, el aumento de IE del piretroide asociado a un organofosforado, pero aun presentándose de manera ineficaz, se puede deber a lo establecido por Rodríguez et al., (2006) en donde varios organofosforados potencializan la acción de los piretroides como la deltametrina y cipermetrina. En México, las mezclas disponibles en el mercado y que se usan con mayor frecuencia son clorpirifós + permetrina, sin embargo, el uso inadecuado y el no tener un diagnóstico de la eficacia, puede y está llevando a la presencia de poblaciones resistentes a nivel nacional de estas asociaciones de ixodicidas.

Tabla 1. Efecto de los ixodicidas y el control en las teleoginas y en sus parámetros reproductivos mediante la PIA.

Ixodicida	Mortalidad de las hembras por grupo	Peso de la masa de huevos por grupo	Porcentaje de eclosión de huevos por grupo
GarraBan MO 29 1A	90%	0.09 g	80%
GarraBan MO 29 1B	90%	0.01 g	0%
Ticoff 1A	20%	0.76 g	90%
Ticoff 1B	20%	0.75 g	80%
H <sub>2</sub> O 1A	0%	0.93 g	98%
H <sub>2</sub> O 1B	0%	0.89 g	98%

Tabla 2. Índices de Eficacia de los ixodicidas.

Ixodicida	Índice de Eficacia
Garra Ban MO 29 (Clorpirifos y permetrina)	96%
Ticoff (Cipermetrina)	28.66%



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Conclusión

Dentro del estado de Nuevo León se presenta un bajo Índice de Eficacia de productos derivados del principio activo piretroide y de la asociación organofosforado-piretroide, según los requerimientos establecidos por la NOM-006-ZOO-1993. Además, estos resultados confirman la importancia de las pruebas de diagnóstico para observar y cuantificar la eficacia de los productos químicos sobre poblaciones de *R. (B.) microplus* a nivel nacional.

### Referencias bibliográficas

- Cabrera-J. D., R. I. Rodríguez, & Rosado A. 2008. Evaluación de la resistencia a la cipermetrina en cepas de campo de *Boophilus microplus* obtenidas de ranchos bovinos del estado de Yucatán, México. *Técnica Pecuaria México* 46: 439–448.
- Drummond, R. O.; Ernest, S.E.; Trevino, J.L.; Gladney, W.J.; Graham, O.H. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*. Laboratory tests of insecticides. *Jour. Econ. Entom.*, n.66, p.130-133.
- Estrada A, Bouattour A, Camicas J.L, Guglielmone, A, Horak I, Jongejan F, Latif A, Pegram R, Walker, A.R. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Experimental and Applied Acarology*, v. 38, n. 02-03, p. 219-235.
- Farias, N. A.; Ruas, J. L.; Santos, T. 2008. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região Sul do Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural* vol.38 no.6.
- Guerrero F.D, Davey R.B, Miller R.J. 2001. Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 38, n. 01, p. 44-50.
- Guglielmone, A.A.; Estrada-Peña, A.; Keirans, A.J.; Robbins, R.G. 2004. Las garrapatas (Acari. Ixodida) de la región zoogeográfica neotropical. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina, 142 p.
- Jonsson, N. N. 1997. Control of cattle ticks (*Boophilus microplus*) on Queensland dairy farms. *Australian Veterinary Journal* 75: 802–807.
- Neri S. 2018. Situación actual de la resistencia de la garrapata *Boophilus Microplus* hacia los ixodicidas en México. Dirección del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. (CENAPA). Departamento de Ectoparásitos y Dípteros. Curso de capacitación para la inspección de ganado y control de la garrapata (*Boophilus* spp.) para la movilización nacional y exportación 19, 20 y 21 de septiembre de 2018.
- Rodríguez RI, Alonso MAD, Rodríguez FA, Fragoso HS, Santamaría VM, Rosario CR. 2006. Prevalence and potential risk factors for organophosphates and pyrethroids resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle ranches from the State of Yucatan, Mexico. *Vet. Parasitol.* v. 136, n. 03-04, p. 335-42.
- Vega M. 1992. Current importance of cattle haemoparasite diseases. In: Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten. Morelos, México. p.144-150.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO DE LA INFECCIÓN DE *Babesia bigemina* EN EL PESO Y NÚMERO DE GARRAPATAS *Rhipicephalus microplus* RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A IVERMECTINA.

### EFFECT OF *Babesia bigemina* INFECTION ON THE WEIGHT AND NUMBER OF *Rhipicephalus microplus* TICKS RESISTANT AND SUSCEPTIBLE TO IVERMECTIN.

González GMA<sup>\*1,2</sup>, Morales GJR<sup>2</sup>, Mercado UM<sup>3</sup>, Aguilar TG<sup>4</sup>, Mosqueda J<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>2</sup> Laboratorio de Inmunología y Vacunas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>3</sup> Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>4</sup> Cuerpo Académico Salud Animal y Microbiología Ambiental, Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

joel.mosqueda@uaq.mx

Palabras Clave: *Babesia bigemina*, Resistencia, *Rhipicephalus microplus*, Ivermectina.

#### Introducción

La babesiosis bovina es una enfermedad que afecta al ganado bovino en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, y es transmitida por garrapatas del género *Rhipicephalus* (*Boophilus*). En el continente americano, esta enfermedad es causada por dos parásitos protozoarios del género *Babesia*; *B. bovis* y *B. bigemina* (OIE, 2004). La enfermedad se caracteriza por ocasionar anemia en los bovinos infectados, además de ictericia, hemoglobinuria e incluso la muerte.

La garrapata *R. microplus* y la babesiosis bovina causan pérdidas económicas a la industria ganadera. El uso de acaricidas químicos ha desempeñado un papel fundamental en el control de *R. microplus*, sin embargo, como consecuencia de su uso indiscriminado, esta especie ha desarrollado resistencia a todas las clases principales de acaricidas en todo el mundo (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2012), incluyendo la ivermectina. En México (Pérez-Cogollo *et al.*, 2010) informaron por primera vez resistencia a la ivermectina en la garrapata *R. microplus* en estado de Yucatán. Cabe mencionar que los mecanismos de resistencia hacia la ivermectina aún no han sido esclarecidos. La selección y sobrevivencia de vectores que presentan resistencia, podría incrementar la transmisión de los patógenos; sin embargo, de manera opuesta, se ha observado que la presencia de alelos de resistencia tiene un efecto negativo en la capacidad de reproducción exitosa *Plasmodium* sp en el vector (Alout, *et al.*, 2013). Esto tiene implicaciones también sobre el efecto de los patógenos en el vector mismo; por ejemplo, se sabe que la infección de *Babesia* spp. tiene un efecto negativo en la alimentación y sobrevivencia de las garrapatas. Sin embargo, el efecto de los mecanismos intracelulares de la resistencia a la Ivecmectina en los patógenos que transmiten no ha sido estudiado. Previamente nosotros desarrollamos una cepa de *R. microplus* resistente a ivermectina (Índice de Resistencia = 4.5) a partir de una colonia susceptible (Morales, JR. ,2018). El objetivo de este trabajo fue determinar si la resistencia a Ivermectina tiene un efecto en el peso de las hembras repletas y la cantidad de garrapatas alimentadas en un bovino infectado con *Babesia bigemina*.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Materiales y Métodos

Se utilizó la cepa de *R. microplus* Media Joya susceptible, una cepa Media Joya resistente a Ivermectina (Índice de Resistencia de 4.5) y una cepa de *B. bigemina* aislada de garrapatas infectadas. El trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales, Campus Juriquilla y en la Nave de Infectómica Animal (NINFA), localizada en el Campus Amazcala, ambos de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se utilizaron tres bovinos (A, B y C) entre 7 y 8 meses de edad, de aproximadamente 170-180 kg libres de anticuerpos anti *Babesia* spp., y libres de brucela y tuberculosis. Al bovino A se le colocaron dos parches cutáneos, uno en cada costado y fue infestado tres veces cada tercer día con 0.75 gramos de larvas de *R. microplus* susceptibles de 15 días de edad en un parche y con 0.75 gramos de larvas *R. microplus* resistentes de 15 días de edad en el otro parche. Lo mismo se hizo con el bovino B, mientras que el bovino C fue esplenectomizado y fue infestado con garrapatas infectadas con *B. bigemina*. Cuando el bovino C presentó 7% de parasitemia en frotis de sangre teñidos con colorante de Giemsa, se obtuvo sangre infectada la cual se lavó con solución VYM y se usó para preparar dos dosis de  $1 \times 10^8$  eritrocitos infectados, las cuales se usaron para infectar al bovino B por vía intravenosa. Se obtuvieron los valores basales del volumen celular aglomerado (VCA) mediante la prueba de microhematocrito, además de la temperatura rectal y el porcentaje de eritrocitos parasitados (PEP). Se colectaron todas las garrapatas que se repletaron los días que los bovinos fueron positivos a *B. bigemina* en el frotis. Las garrapatas colectadas cada día fueron lavadas y una vez secas, se pesaron una por una, tomando en cuenta que fueron 4 grupos de garrapatas: susceptibles no infectadas (SnI), resistentes no infectadas (RnI), susceptibles infectadas con *B. bigemina* (SI), resistentes infectadas con *B. bigemina* (RI). Se obtuvo el promedio de los pesos y desviación estándar por grupo, por día y el número total de garrapatas colectadas durante los cuatro días y se hizo una comparación mediante ANOVA y prueba Tukey con un 95% de confianza.

### Resultados

Los bovinos A y B se infestaron con *R. microplus* resistentes y susceptibles a Ivermectina en parches separados. El bovino B se infectó con *Babesia bigemina* y fue positivo al frotis sanguíneo a partir del día 5 post-infección y hasta el día 8. Durante esos cuatro días se colectaron garrapatas de los dos parches de los dos bovinos.

El análisis estadístico indicó que el peso de las garrapatas colectadas fue significativamente menor en el grupo de garrapatas RI en los cuatro días de colecta (5dpi= 0.18g, 6 dpi=0.18 g, 7 dpi=0.18 g, 8 dpi=0.18 g) comparado con los otros tres grupos, mientras que en el día 5 post-infección, las garrapatas del grupo SnI tuvieron un significativamente peso mayor (0.27 g) comparado con el de los otros tres grupos (RnI 0.22 g, SI 0.23 y RI 0.18) (Figura 1).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

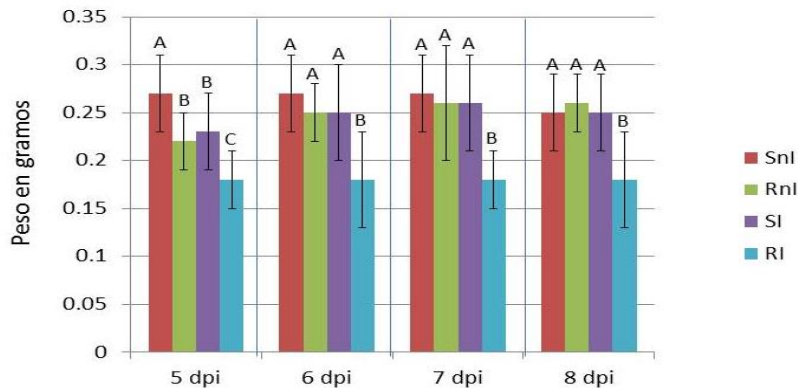


Figura 1. Peso promedio individual de garrapatas *R. microplus* susceptibles y resistentes a Ivermectina y su efecto a la infección por *B. bigemina*. RI: Resistentes infectadas. Rnl: Resistentes no infectadas. SI: Susceptibles infectadas. Snl: Susceptibles no infectadas. Análisis por día con Anova y prueba de Tukey con 95% de confianza. Letras distintas muestran diferencia estadística. \*Dpi = días postinfección

Se colectaron las garrapatas de cada grupo durante 9 días y se contó el total de garrapatas por grupo durante ese tiempo, el resultado indicó que el número de garrapatas susceptibles no infectadas (Snl) fue mucho mayor (1076 garrapatas) que las garrapatas susceptibles infectadas (SI = 655 garrapatas). Por su parte, el número de garrapatas resistentes a Ivermectina no infectadas fue mucho mayor (Rnl = 463 garrapatas), al número de garrapatas repletas de la cepa resistente a Ivermectina e infectadas con *Babesia bigemina* (RI = 281 garrapatas) (Figura 2.). Finalmente, el número de garrapatas susceptibles no infectadas fue mayor al número de garrapatas resistentes no infectadas (1076 vs 463), mientras que el número de garrapatas resistentes a Ivermectina no infectadas fue mayor al número de garrapatas resistentes a Ivermectina e infectadas con *B. bigemina* (655 vs 281).

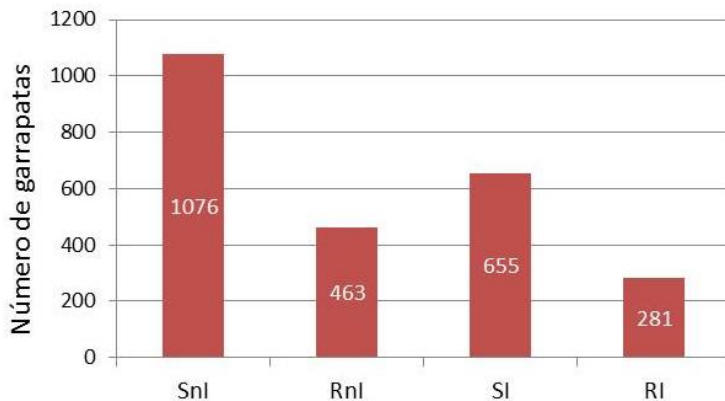


Figura 2. Número total de garrapatas colectadas y *R. microplus* susceptibles y resistentes a Ivermectina su efecto a la infección por *B. bigemina*. RI: Resistentes infectadas. Rnl: Resistentes no infectadas. SI: Susceptibles infectadas. Snl: Susceptibles no infectadas.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Discusión

En este estudio se evaluó el efecto de la infección por *B. bigemina* en garrapatas susceptibles y resistentes a Ivermectina con el mismo fondo genético.

Se observó que las garrapatas RI tuvieron un peso promedio menor comparado con los tres otros grupos, lo que sugiere que la infección por *B. bigemina* y el fenotipo de resistencia combinados, afectan la capacidad de alimentarse. En cepas de *R. microplus* resistentes a organofosforados con un I.R de 18.7, encontraron una disminución de 34.1% en el peso de hembras repletas recolectadas en comparación con una cepa susceptible (Davey *et al.*, 2013). Con un índice de resistencia a la Ivermectina de 4.5, se observó una disminución en el número total de garrapatas colectadas cuando estas eran resistentes a la Ivermectina comparadas con las susceptibles, indicando un efecto directo de la resistencia a la Ivermectina. También se observó un efecto de la infección por *B. bigemina* ya que se obtuvieron menos garrapatas repletas cuando éstas estaban infectadas, comparadas con las no infectadas, independientemente de la resistencia o susceptibilidad a la ivermectina. La infección por *B. bigemina* en garrapatas *R. microplus* tiene un efecto directo en el vector. Friedhoff y Smith, (1981) reportaron que, cuando las garrapatas se alimenta de bovinos infectados con parasitemias mayores al 0.1%, se causa destrucción del epitelio intestinal de la garrapata, afectando su sobrevivencia. Es probable que el efecto de la resistencia a Ivermectina sea negativo para la garrapata y que aunado al efecto negativo de la infección por *B. bigemina*, provoquen un efecto aditivo negativo en las garrapatas alimentadas. Estudios moleculares permitirán evaluar si el número de patógenos en las garrapatas se afecta cuando éstas son resistentes a la Ivermectina, lo cual puede traducirse en una menor transmisión al hospedero vertebrado.

### Conclusión

Las garrapatas *R. microplus* con un IR a Ivermectina de 4.5 e infectadas con *B. bigemina* presentan un peso promedio significativamente menor con respecto a las garrapatas susceptibles y las garrapatas no infectadas. La resistencia a Ivermectina y la infección por *B. bigemina* son un factor combinado que determina un menor número de hembras repletas *R. microplus*.

### Referencias bibliográficas

- Alout, H., Ndam, N. T., Sandeu, M. M., Djégbé, I., Chandre, F., Dabiré, R. K., Djogbénu, L. S., Corbel, V., ... Cohuet, A. (2013). Insecticide resistance alleles affect vector competence of *Anopheles gambiae* s.s. for *Plasmodium falciparum* field isolates. *PloS one*, 8(5).
- Davey, R. B., Thomas, D. B., Pound, J. M., Lohmeyer, K. H., & Miller, R. J. (2013). *Efficacy of an Organophosphate Mixture Against an Organophosphate-resistant Strain of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae)*. *Journal of Entomological Science*, 48(4), 306–316. doi:10.18474/0749-8004-48.4.306
- Friedhoff, K. T., Smith, R.D. (1981). Transmission of *Babesia* by ticks. Ed. Miodrag Ristic and Julios P. Kreier, 267-231.
- Morales, JR. (2018). Determinación del grado de infección por *Babesia bigemina* en garrapatas *Rhipicephalus microplus* resistentes y susceptibles a ivermectina (tesis de maestría). Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- OIE. (2004). Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004. Capítulo 2.3.8, babesiosis bovina. 548-547 Disponible en [http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf\\_es/2.3.08\\_Babesiosis\\_bovina.pdf](http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.3.08_Babesiosis_bovina.pdf).
- Perez-Cogollo, L. C., Rodríguez-Vivas, R. I., Ramírez-Cruz, G.T., Miller, R.J. (2010). First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol.* 168:165-169.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Hodgkinson, J. E., J.Trees, A. (2012). Acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Current status and mechanisms of resistance. *Rev mex de cien pecu.* 3: 9-24



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

***Rhipicephalus sanguineus* Y *Rhipicephalus microplus* EN CÁNIDOS DE NUEVO LEÓN,  
MÉXICO.**

***Rhipicephalus sanguineus* AND *Rhipicephalus microplus* IN CANIDS FROM NUEVO LEON,  
MEXICO.**

Guanajuato PGE\*<sup>1</sup>, Sánchez CRM<sup>1,2</sup>, Fernández SI<sup>1,3</sup>, Rodríguez RJJ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Av. Francisco Villa s/n Col. Ex Hacienda El Canadá, Escobedo, N. L. México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, Unidad de Patógenos Emergentes, Reemergentes y Vectores. Calle Gonzalitos s/n, Mitras Centro, CP. 64460, Monterrey, N.L. México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Zoología de Invertebrados, Laboratorio de Entomología Médica. Calle Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, CP. 66451, San Nicolás de los Garza, N. L. México.  
gesm\_95@hotmail.com

Palabras clave: *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus microplus*, México.

## Resumen

Es importante determinar la distribución y presencia de garrapatas, debido a que algunas especies son transmisoras de patógenos. Por lo que en el presente estudio, se documentó la presencia de dos especies de garrapatas en el estado de Nuevo León. El muestreo fue por conveniencia, con un tiempo de búsqueda de 30 minutos por casa y canino. Las capturas fueron durante el mes de septiembre en el año 2012 en General Escobedo, en el mes de marzo del 2013 en Montemorelos, en el mes de julio del 2017 en General Escobedo y durante el mes de abril del 2018 en Cadereyta, así como en agosto del 2018 en Monterrey del estado de Nuevo León. Se capturaron un total de 377 ejemplares de garrapatas (*Acarí: Ixodidae*) de dos especies: *Rhipicephalus sanguineus* (n= 292; Ninfa: 1, Adulto: 291), *Rhipicephalus microplus* (n= 85; Larva: 16, Adulto: 69). La proporción sexual para *Rhipicephalus sanguineus* (108 hembras y 183 machos); *Rhipicephalus microplus* (67 hembras y 2 machos); fue heterogénea. Del total, 83.73% estuvieron alimentadas. El número de ejemplares por municipio fueron: 7 ejemplares en Monterrey, 370 ejemplares en General Escobedo. La especie capturada con mayor distribución fue la *Rhipicephalus sanguineus*; Éstas dos especies tienen una gran importancia en el área médica, tanto en salud humana como veterinaria.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IMPORTANCIA DE LA MOVILIZACION DEL GANADO DE ZONAS ENDEMICAS A ZONAS LIBRES DE GARRAPATAS

## IMPORTANCE OF THE MOBILIZATION OF THE LIVESTOCK OF ENDEMIC ZONES TO FREE ZONES OF TICKS

Lara GA<sup>1</sup>, Cantó AGJ<sup>1</sup>, Milian SF<sup>1</sup>, Guerrero SRI<sup>2</sup>, Aguilar TG\*<sup>1</sup>, Vega MCA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Querétaro

<sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México

gabriela.aguilar@uaq.mx

Palabras clave: Zona endémica, Zona libre, Garrapata

### Introducción

Las garrapatas son parásitos endémicos de las regiones tropicales y subtropicales del mundo; causan gran impacto en la producción ganadera bovina pues ocasionan pérdidas económicas como la disminución en las variables productivas. Además, las garrapatas son vectores de agentes infecciosos como *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *Anaplasma marginale* entre otros. En México contamos con el acuerdo por el que se establece la Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus* spp., con la finalidad de evitar la infestación o re infestación en zonas declaradas libres, esto está regulado y supervisado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Además, existe la presencia de otras especies de garrapatas que afectan la ganadería nacional como las pertenecientes al género *Amblyomma*, la protección de regiones, estados o zonas libres de *Rhipicephalus* y *Amblyomma* se debería efectuar mediante un estricto control de la movilización de los animales, con el que se prohíba el traslado de animales infestados por garrapata hacia otras zonas del territorio nacional. El objetivo de trabajo es analizar el papel del ganado procedente del trópico del país en la diseminación de la garrapata y las enfermedades transmitidas por estas en el semidesierto queretano.

### Objetivo

Analizar el papel del ganado procedente del trópico del país en la diseminación de la garrapata y las enfermedades transmitidas por estas en el semidesierto queretano.

### Materiales y métodos

El trabajo se dividió en dos partes, la primera se realizó un muestreo por conveniencia, en dos Unidades de Producción Pecuaria (UPP) de bovinos de carne ubicadas en Ezequiel Montes y que tuvieran antecedentes de ingresar animales del trópico. Se obtuvieron muestras de todos los bovinos en la recepción durante tres meses, se colectaron garrapatas de cada individuo, se cuantificó el número de individuos que tenían garrapatas de cada lote y se identificó el género de garrapatas encontradas.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

A animales que presentaban decaimiento y mal estado en general se les extrajo sangre con tubos Vacutainer® con EDTA para pruebas de microhematocrito y frotis sanguíneo. El frotis se fijó con alcohol metílico absoluto y se tiñó con Giemsa al 10% para su observación y diagnóstico por microscopía óptica (Rodríguez-Vivas *et al.*, 1994) para determinar el estado anémico y la presencia de *Anaplasma* y/o *Babesia* respectivamente.

Las garrapatas recolectadas se lavaron para retirar cualquier contaminante, se sumergieron en una solución de benzal al 10%, se enjuagaron para eliminar cualquier residuo, se secaron con toallas de papel y se colocaron entre 10 y 15 garrapatas del mismo género en cajas de Petri, las cajas fueron etiquetadas y se colocaron en una incubadora a una temperatura entre 25 a 26 °C y una humedad relativa del 80%. Al día 15 post recolección, posterior a la ovoposición, las hembras adultas fueron retiradas de la caja de petri y sometidas al diagnóstico de hemolinfa, mediante el corte de un artejo de una pata para obtener la hemolinfa y se realizó un frotis. El frotis se fijó con alcohol metílico absoluto y teñido con Giemsa al 10% para diagnóstico a través de microscopía óptica (Rodríguez-Vivas *et al.*, 1994). Los huevos se colocaron en viales, se colocó un gramo de huevos en cada vial, se etiquetaron y se colocaron en la incubadora. 45 días post recolección las larvas eclosionaron de los huevos y su exoesqueleto se endureció.

A las larvas se les realizó la prueba de resistencia contra piretroides (Flumetrina) y lactonas macrocíclicas (Ivermectina), para determinar resistencia, dicha prueba se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ.

Algunas larvas fueron enviadas al Centro Nacional de Parasitología, en Cuernavaca, Morelos; para que se realizaran pruebas de resistencia para Lindano, Chlopiriphos, Coumaphos, Diazinon, Flumetrina, Deltrametrina, Cypermetrina, Fipronil y Amitraz.

La segunda parte del estudio se realizó en la comunidad de Urecho, Querétaro; zona aledaña a las UPP muestreadas y sin reporte oficial de la presencia de *Rhipicephalus* spp. (Siap-SAGARPA, 2016). El ganado de esta zona es nativo de la región y pertenece a pequeños productores. Se realizó el muestreo durante dos meses, en el cual, se colectó el mayor número posible de garrapatas de cada individuo, se cuantificó el número de individuos con garrapata, se analizó el género de garrapatas que se encontraron en los individuos y se realizaron pruebas de resistencia previamente mencionadas.

### Resultados y discusión

La frecuencia de animales infestados de garrapatas de las UPP Ezequiel Montes se muestran en el cuadro 1.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 1. Porcentaje de animales infestados con garrapatas a la recepción en UPP de Ezequiel Montes durante junio julio y agosto del 2018.

	Unidad de transporte	Número de animales	Estado de procedencia	Número de animales con garrapata (%)
	1	58	Veracruz	52 (89.6)
	2	62	Veracruz	50 (80.6)
	3	60	Chiapas	51 (85.0)
	4	58	Veracruz	50 (86.2)
	5	62	Chiapas	47 (75.8)
Total	5	300		250 (83.4)

El ganado del que se obtuvo las garrapatas provenía de regiones tropicales del país donde las condiciones climáticas son propicias para que se complete el ciclo de la garrapata y se establezca una estabilidad enzoótica (Almazán *et al.*, 2018; Siap-SAGARPA, 2016).

El principal género de garrapata que se encontró en este estudio fue *Rhiphicephalus*, el cual se encuentra distribuido en todo el país con excepción de las altas mesetas del centro y norte del territorio (Estrada-Peña *et al.*, 2006; Siap-SAGARPA, 2016), territorio que comprende los estados de origen de los bovinos.

Se recuperaron también especímenes del género *Amblyomma*, considerado el segundo género de mayor importancia en bovinos del trópico (Almazán *et al.* 2016). *A. mixtum* se encuentra comúnmente parasitando al ganado en todos los estados que comprenden la franja del Golfo de México hasta la península de Yucatán, la región central del país y el Pacífico desde el estado de Nayarit hasta Chiapas (Siap-SAGARPA, 2016), concordando con lo encontrado en este estudio.

Se realizó la prueba de resistencia a Flumetrina por el método de paquete de larvas resultando en el 100% de supervivencia en las garrapatas colectadas. Para Ivermectina se realizó la prueba de inmersión de larvas modificada, los resultados se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de la prueba de inmersión de larvas modificada para Ivermectina de garrapatas *Rhiphicephalus* colectadas en UPP de Ezequiel Montes.

	Vivas/muertas	Vivas/muertas	Vivas/muertas	% de Muertas
Testigo	100/0	100/0	100/0	0
20 ppm	20/84	27/97	30/89	77.8
40 ppm	26/104	16/92	25/88	80.9

Larvas fueron remitidas al CENAPA, para realizar pruebas de resistencia a distintos compuestos, los resultados se muestran en el cuadro 3.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de resistencia, realizados en el CENAPA para diferentes compuestos:

Familia	Compuesto	% de larvas muertas
TESTIGO	-	0
CLORADO	LINDANO	51.6
FOSFORADOS	CHLORPIRIFOS	48.42
	COUMAPHOS	10.38
	DIAZINON	9.32
PIRETROIDES	FLUMETRINA	19.78
	DELTAMETRINA	33.33
	CYPERMETRINA	33.24
FENILPIRAZOLONAS	FIPRONIL	100
AMIDINAS	AMITRAZ	20.22

Los resultados coinciden con trabajos previos que registran resistencia a distintos compuestos garrapaticidas probados de manera individual y múltiple, aunque en este trabajo se presentó una total susceptibilidad al compuesto fipronil ( Rodríguez-Vivas *et al.*, 2005; Perez-Cogollo *et al.*, en 2010).

Se muestrearon 101 bovinos de 5 productores diferentes de la comunidad de Urecho, Querétaro, el 100% tuvo, al menos, una garrapata. Estas fueron remitidas al CENAPA para su identificación, resultando *R. annulatus*. La distribución de *R. annulatus* es incierta, algunos trabajos la localizan en el norte del país, aunque su identificación es complicada debido a su similitud con *R. microplus* (Almazán *et al.*, 2018). *R. annulatus* es considerada una garrapata de importancia económica por ser vector biológico de *Anaplasma* y *Babesia* (Pérez de León *et al.*, 2014), tiene preferencia por lugares con altas temperaturas y poca precipitación pluvial (Estrada-Peña *et al.*, 2006), condiciones de esta región de Querétaro. Los hallazgos de garrapatas no coinciden con lo que reporta el sistema nacional de vigilancia epidemiológica (SIVE), el cual, no reporta ningún caso de ixodidosis en el estado de Querétaro desde el año 2011.

Los resultados de los animales en la recepción de las UPP de Ezequiel Montes resultaron negativos para *Babesia* y *Anaplasma*. No obstante, se encontró la presencia de quinetos de *Babesia* en la prueba de hemolinfa que se realizó a las garrapatas que se encontraban infestando a estos animales; para mantener la estabilidad enzoótica es necesaria una cantidad de garrapatas infectadas con *Babesia* que asegure que todos los animales menores de 9 meses se expongan a dicha enfermedad, para después desarrollar una inmunidad específica que limita la parasitemia. Por otro lado, en las unidades muestreadas del municipio de Urecho, las poblaciones de garrapatas se ven reducidas considerablemente de una temporada a otra, propiciando que algunos animales no se expongan a la infección por *Babesia* hasta después de los nueve meses de edad, generando alta morbilidad con alta mortalidad, (Almazán *et al.*, 2018).

De los animales analizados, se diagnosticaron 4 casos de Babesiosis bovina y 2 de Anaplasmosis transmitida por *Rhipicephalus spp.* Debido a que no son enfermedades endémicas de la zona, no fueron reconocidas por los productores ni los médicos veterinarios de la localidad, ocasionando pérdidas económicas a los pequeños productores (Mosqueda *et al.*, 2012; Rodríguez *et al.*, 2009).



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Conclusiones

Este es el primer reporte que se realiza en el estado de Querétaro sobre el establecimiento de *Rhipicephalus* spp. Anaplasmosis y Babesiosis en el semidesierto.

Este trabajo hace constar que la movilización de ganado infestado con garrapatas es llevada sin regulación o restricción de zonas endémicas hacia el centro del país, favoreciendo su diseminación.

En este estudio, el 80% de los animales que ingresaron a Querétaro provenientes de Veracruz y Chiapas estaban infestados de garrapatas.

Los géneros recuperados fueron *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, considerados los dos más importantes para la ganadería, por su importancia en la economía y por su papel como vectores de enfermedades para animales y para el hombre.

Las garrapatas del género *Rhipicephalus* recuperadas en este trabajo presentaron resistencia múltiple a los acaricidas, esto representa un problema para el control de dichas poblaciones.

Agradecimientos. M en C. Francisco Martínez Ibáñez por el análisis de la resistencia.

### Referencias bibliográficas

- Almazan, C., T. G. Aguilar, S. Rodrigues, J. Mosqueda, and A. Perez de Leon. 2018. Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production. *Front Biosc* 23: 1535 - 1551.
- Almazán, C., A. Torres-Torres, L. Torres-Rodríguez, N. Soberanes-Céspedes, and M. Ortiz-Estrada. 2016. Aspectos biológicos de *Amblyomma mixtum* (koch, 1844) en el noreste de México. *Quehacer Científico en Chiapas* 11: 10 - 19.
- Estrada-Peña, A., J. L. Bouattour, A. Camicas, A. Guglielmone, I. G. Horak, F. Jongejan, A. Latif, R. G. Pegram, and A. R. Walker. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (*Acar*: *Ixodidae*) in Africa and Latin America. *Exp Appl Acarol* 38: 219- 235.
- Mosqueda, J., A. Olvera-Ramirez, G. Aguilar-Tipacamu, and G. J. Canto. 2012. Current advances in detection and treatment of babesiosis *Curr Med Chem* 19: 1504 - 1518.
- Perez-Cogollo, L., R. I. Rodríguez-Vivas, G. T. Ramirez, and R. J. Miller. 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Vet Parasitol* 168: 165 - 169.
- Pérez de León, A. A., P. D. Teel, A. Li, L. Ponnusamy, and R. M. Roe. 2014. Advancing integrated tick management to mitigate burden of tick-borne diseases. *Outlooks Pest Manag* 25: 382 - 389.
- Rodríguez-Vivas, R. I., M. A. Alonso-Díaz, R.-A. F., and G. Aguilar-Tipacamu. 2005. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodídeos en el sureste de México folleto técnico no. 1. In: *Conacyt-Sagarpa-2002-C01-1754* (ed.), México.
- Rodríguez-Vivas, R. I., and J. L. Domínguez-Alpizar. 1994. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. *Revista Bio* 9: 26 - 37.
- Rodríguez, S. D., M. A. García-Ortiz, R. J. Jiménez-Ocampo, and M. C. A. Vega. 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect Genet Evol* 9: 1092-1101.
- Siap-SAGARPA. 2016. Inventario ganadero. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## HALLAZGO E IDENTIFICACION TAXONOMICA DE *Haemaphysalis longicornis* EN UN EQUINO DE IMPORTACIÓN PROCEDENTE DE TEXAS, EUA, RECHAZADO PARA SU INGRESO A MEXICO.

### FINDING AND TAXONOMIC IDENTIFICATION OF *Haemaphysalis longicornis* IN AN IMPORT EQUINE FROM TEXAS, USA, REJECTED FOR ENTRY INTO MEXICO.

Martínez IF\*, Peláez AF., Osorio MJ., Portilla SD., Delabra VG, Jasso VCE

CENAPA-SENASICA-SADER, Carretera Cuernavaca Cuautla No. 8534. Colonia Progreso, Jiutepec, Morelos. México. C.P. 62550, francisco.martinez@senasica.gob.mx

Palabras clave: garrapata, equinos, exótica.

#### Introducción

Las garrapatas son arácnidos agrupados en dos familias principales conocidas como Argasidae e Ixodidae, las cuales son parásitos hematófagos persistentes, vectores de muchas enfermedades tanto a los animales domésticos, como a los humanos provocando zoonosis que pueden llegar a la muerte. La saliva de la garrapata que se inyecta en la sangre del huésped puede contener toxinas y muchos otros organismos patógenos.

De los géneros de garrapatas identificados en México, *Haemaphysalis* ha sido reportada en México con tres especies: la garrapata del conejo, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869), *Haemaphysalis juxtakochi* (Cooley, 1946) en venados y la garrapata de las aves, *Haemaphysalis chordeilis* (Packard, 1869) (Hoffman 1962). Debido a que estas especies han sido consideradas de bajo impacto en la sanidad, se ha prestado relativamente poca atención a su ecología y distribución geográfica. En el caso de *Haemaphysalis longicornis*, es una garrapata nativa del noreste de Asia (Japón, China y Corea) la cual es exótica para el territorio Mexicano. Esta garrapata se ha establecido como poblaciones invasoras en Australia, Nueva Zelanda y varias islas del Pacífico,

En los Estados Unidos, desde 2017 se identificó *H. longicornis* en Nueva Jersey y posteriormente en 2018 en Arkansas, Connecticut, Maryland, Nueva York, Carolina del Norte, Pennsylvania, Virginia y Virginia Occidental (Beard et al. 2018). Sin embargo, aun cuando no se sabe cómo se introdujo en los Estados Unidos, se le conoce como la garrapata asiática de cuernos largos, la cual se está propagando rápidamente a lo largo de la Costa Este de los EUA. En junio del 2013 un espécimen fue colectado en perro en Nueva Jersey y en la actualidad se encuentra distribuida en 28 condados de 9 estados de la Unión Americana (ScienceNews, Jun 2018).

En la actualidad, esta garrapata es de gran importancia por su capacidad invasoras, tolera una amplia gama de temperaturas ambientales (-2 °C a 40 °C) y se adapta a diferentes climas (Danielle M.2019), aunque son más exitosas en condiciones húmedas, templadas y cálidas, además de que prefiere áreas de hierba alta y un alto nivel de humedad en el suelo. Son garrapatas de talla pequeña que requieren de 3 huéspedes para completar su ciclo biológico y presentan dos generaciones al año (Heath ACG, 2016). Las poblaciones de esta especie tienen una reproducción sexual y



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

partenogenética, lo que facilita su establecimiento y diseminación (Heath 2013). Parasitan una amplia variedad de mamíferos, fauna silvestre y aves que pueden ser migratorias, principalmente bovinos, ovejas, perros, humanos, burros, erizos, caballos, cerdos, patos, pavos, gallinas, urracas, faisanes, periquitos, zorzales, alondras, gorriones, conejos cabras, tejones, gatos, ciervos, osos, zorros, mapaches, ratas, hurones, comadrejas, entre otros (Heath 2016), incrementando el riesgo de introducción a nuestro Territorio Nacional.

Se encuentran además asociadas con la transmisión de enfermedades al humano (Zhuang et al. 2018) y diferentes especies animales como son: *Theileria*, *Babesia*, Fiebre Severa con Síndrome de Trombocitopenia (SFTSV), *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Borrelia*, *Rickettsia* (Heath 2016).

Para estudiar los posibles impactos de *H. longicornis* en México, un primer paso crítico es tomar medidas preventivas para evitar su ingreso a nuestro País, planear un monitoreo y vigilancia epidemiológica para detectar por medio de la identificación correctamente de la especie y eliminar posibles focos de infestación, mediante medidas contraepidémicas adecuadas.

### Objetivo

Identificar la especie *Haemaphysalis longicornis* por microscopia, mediante el uso de claves taxonómicas reconocidas científicamente.

### Materiales y métodos

Los inspectores de la Oficina de Inspección Fitozoosanitaria de Piedras Negras, Coahuila, realizaron la inspección física del equino TAG 7408 detectando la presencia de garrapatas en la parte interior del muslo del cuarto posterior, las cuales fueron depositadas en un frasco con alcohol al 70% para su envío a Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA), junto con su documentación reglamentaria para realizar el diagnóstico de identificación taxonómica.

Para realizar la identificación taxonómica se contó con el apoyo de microscopio estereoscópico marca Leica, modelo S6D, con aumento de 10X y un lente 2X de 35 mm, con cámara integrada conectada a una PC para proyección de imagen, por medio de cual se tomaron evidencias fotográficas de tres especímenes para su comparación con claves taxonómicas para la especie *Haemaphysalis longicornis*, citada (Andrea M. et al. 2019). Para la manipulación de los especímenes, se contó con cajas Petri, agujas de disección, pinzas de relojero y plastilina para montar los especímenes.

### Resultados

Los especímenes recibidos correspondieron a dos hembras en proceso de repleción (semirrepletas) y una hembra repleta, que fueron identificadas con las claves taxonómicas reportadas por Andrea M. et al. 2019, como *Haemaphysalis longicornis*, especie de garrapata exótica para México.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Discusión y conclusiones

La identificación taxonómica realizada en los tres especímenes de garrapata, se realizaron de acuerdo a las claves taxonómicas citadas por Andrea M. *et. al.* (2019), con las cuales se pueden identificar adultos, además de ninfas y larvas de las diferentes especies de *Haemaphysalis* reportadas en América, incluyendo *H. longicornis*.

En el caso de los ejemplares identificados como *Haemaphysalis longicornis*, se detectaron las siguientes características morfológicas, básica para su identificación:

- Los tres ejemplares correspondieron a hembras adultas, considerando que presentaron cuatro pares de patas, orificio genital y placas estigmas (Figura 1).
- Base del gnatosoma rectangular con presencia de cuernos, segmento palpal 3 con presencia de cuernos, segmento palpal 2 elongado en forma de campana, en la vista dorsal (Figura 2).
- Presencia de cuernos en el segmento palpal 3 y dentición 5/5 (cinco hileras de dientes de cada lado), en la vista ventral (Figura 3).

Con la información anterior, se concluye que los tres especímenes recibidos se identificaron como la especie *Haemaphysalis longicornis*, exótica para México.

Como medidas restrictivas se modificaron los requisitos zoosanitarios para la importación de animales vivos, los cuales deben ingresar sin garrapatas, previo a un tratamiento garrapaticida, de acuerdo a su propósito de ingreso.

Se establecieron diversas medidas de vigilancia epidemiológica, para el monitoreo de los animales vivos que ingresan a nuestro país procedentes de EUA, Asia, Australia y Nueva Zelanda.

Se está reforzando el monitoreo de animales en diversas entidades del país, con énfasis en aquellas entidades de la franja fronteriza con EUA.

Su introducción en México representaría un gran impacto económico al afectar la producción de leche, carne, pieles, transmitiendo enfermedades, anemia y efectos tóxicos por su picadura, además de disminuir la fertilidad del ganado. El territorio Nacional presenta condiciones climáticas que hacen posible su establecimiento y distribución en diversos estados, por tal motivo la inspección en la franja fronteriza debe ser lo más minucioso posible en todas las especies vivas que ingresen a nuestro país, ya que somos el mayor socio comercial de EUA por el nivel de demanda de bienes y servicios.

Finalmente, el riesgo de introducción de la garrapata exótica de cuernos largo (*H. longicornis*) no se descarta, por lo que se establecen planes de vigilancia y de contingencia que minimicen el riesgo asociado a su presencia, tanto para la Salud Pública como para la Salud Animal y la producción pecuaria nacional.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

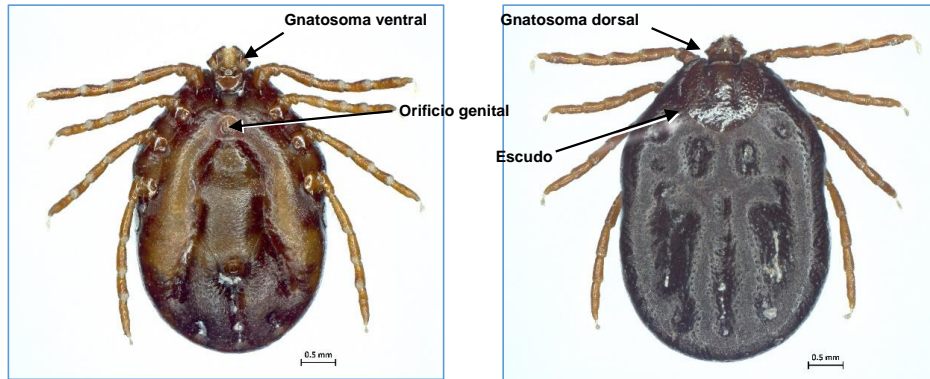
### Referencias bibliográficas

- Ana Esther Hoffman Mendizábal. Monografía de los ixodoidea de México. I Parte; Tomo XXIII. Diciembre de 1962. Laboratorio de Ecología y Paleontología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. México, D.F. pp 1-96.
- Andrea M. Egizi, Richard G. Robbins, Lorenza Beati, Santiago Nava, Colleen R. Evans, James L. Occi, Dina M. Fonseca (2019). A pictorial key to differentiate the recently detected exotic *Haemaphysalis longicornis* Neumann, 1901 (Acari, Ixodidae) from native congeners in North America.
- Beard CB, Occi J, Bonilla DL, Egizi AM, Fonseca DM, Mertins JW, Backenson BP, Bajwa WI, Barbarin AM, Bertone MA, Brown J, Connally NP, Connell ND, Eisen RJ, Falco RC, James AM, Krell RK, Lahmers K, Lewis N, Little SE, Neault M, Pérez de León AA, Randall AR, Ruder MG, Saleh MN, Schappach BL, Schroeder BA, Seraphin LL, Wehtje M, Wormser GP, Yabsley MJ, Halperin W (2018) Multistate Infestation with the Exotic Disease–Vector Tick *Haemaphysalis longicornis* – United States, August 2017 – September 2018. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report 67: 1310–1313.
- Danielle M. Tufts, Meredith C. VanAcker, Maria P. Fernandez, Anthony DeNicola, Andrea Egizi, Maria A. (2019) Diuk-Wasser Distribution, Host-Seeking Phenology, and Host and Habitat Associations of *Haemaphysalis longicornis* Ticks, Staten Island, New York, USA. Emerging Infectious Diseases www.cdc.gov/eid • Vol. 25, No. 4, April 2019. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2504.181541>.
- Heath ACG (2013) Implications for New Zealand of potentially invasive ticks sympatric with *Haemaphysalis longicornis* Neumann, 1901 (Acari: Ixodidae). Systematic & Applied Acarology 18: 1–26.
- Heath ACG (2016) Biology, ecology and distribution of the tick, *Haemaphysalis longicornis* Neumann (Acari: Ixodidae) in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal 64: 10–20. <https://doi.org/10.1080/00480169.2015.1035769>.
- Keirans JE, Restifo RA (1993) *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley (Acari: Ixodidae), a Neotropical tick species, found in Ohio. Journal of Medical Entomology 30: 1074–1075.
- Sutherst RW, Moorhouse DE. (1972) The seasonal incidence of Ixodid ticks on cattle in an elevated area of South-Eastern Queensland. Australian Journal of Agricultural Research. 1972;23:195–204. <http://dx.doi.org/10.1071/AR9720195>
- Zhuang L, Sun Y, Cui XM, Tang F, Hu JG, Wang LY, Cui N, Yang ZD, Huang DD, Zhang XA, Liu W, Cao WC (2018) Transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus by *Haemaphysalis longicornis* ticks, China. Emerging Infectious Diseases 24:868–871. <https://doi.org/10.3201/eid2405.151435>
- <https://www.sciencenews.org/article/invasive-longhorned-tick-can-clone-itself-suck-livestock-dry>

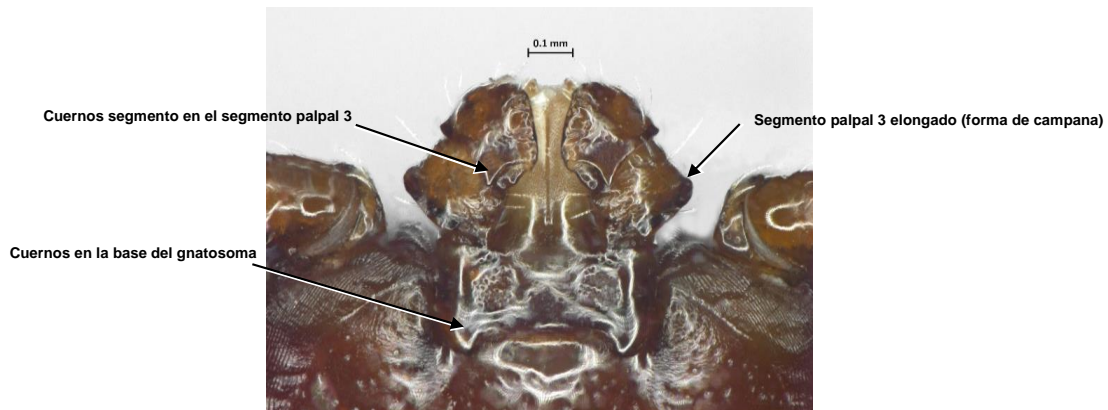


# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLÓGÍA VETERINARIA

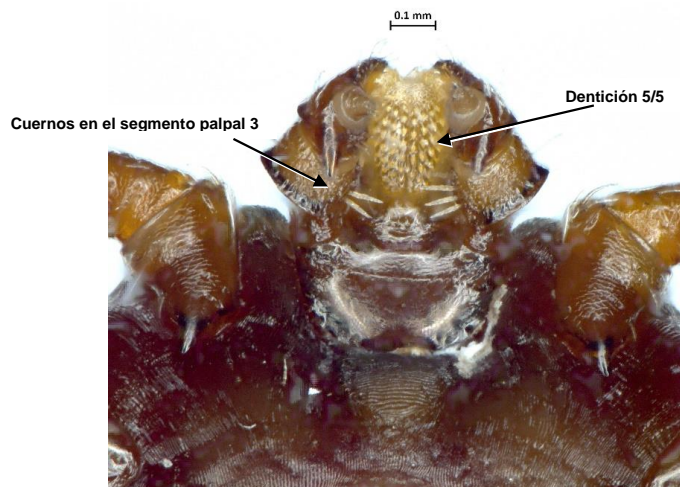
## APÉNDICE DE FIGURAS:



**Figura 1.** Vista ventral y dorsal de hembras de *Haemaphysalis longicornis*.



**Figura 2.** Vista dorsal de *Haemaphysalis longicornis*, con cuernos en la base del gnatosoma y en el segmento palpal 3. Segmento palpal 2 elongado en forma de campana.



**Figura 3.** Vista ventral de *Haemaphysalis longicornis*, con cuernos en el segmento palpal 3 y dentición 5/5 (cinco hileras de dientes de cada lado).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## CARACTERIZACIÓN DE UN POLIPEPTIDO DERIVADO DE LA PROTEÍNA RmS17 DE LA GARRAPATA *Rhipicephalus microplus* EN UNA CEPA MEXICANA

### CARACTERIZATION OF POLYPEPTIDE FROM RmS17 SERPIN PROTEIN OF TICK *Rhipicephalus microplus* IN MEXICAN STRAIN

Martínez MNT<sup>1\*</sup>, Hernández OR<sup>2</sup>, Quiroz RH<sup>1</sup>, Castro SE<sup>2</sup>, Barradas PFT<sup>3</sup>, Lagunes QRE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM).

<sup>2</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Sanidad Animal e Inocuidad (CENID-SAI) - INIFAP.

<sup>3</sup> Campo experimental "La Posta", INIFAP.

rodolfo.lagunes@gmail.com

Palabras clave: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, serpina RmS17, polipéptido.

#### Introducción

La garrapata *Rhipicephalus microplus* es uno de los parásitos más importantes que afecta al ganado bovino; ya que provoca grandes pérdidas económicas, tanto por sus efectos en la producción de leche, carne y subproductos, así como por la transmisión de enfermedades (Babesiosis y Anaplasmosis). A causa de esto, se han implementado medidas de control, siendo la aplicación de ixodicidas la más utilizada a la fecha (Ostfeld *et al.*, 2006); sin embargo, la mayor desventaja de este método de control es la generación de cepas resistentes. Derivado de esto, se requiere la búsqueda de nuevas alternativas, motivando el interés en el desarrollo de vacunas como control inmunológico contra garrapatas de gran importancia (De la Fuente y Kocan, 2003). Hasta el momento la única vacuna comercial existente en México, se basa en la proteína recombinante Bm86 (Bovimune Ixovac<sup>®</sup>), la cual presenta ciertas desventajas al ser una vacuna exclusiva contra el género *Rhipicephalus* spp. y por variaciones en cuanto al nivel de eficacia contra cepas de *R. microplus* de diferentes regiones geográficas.

Actualmente, en la era post-genómica se proponen nuevas herramientas para el diseño, búsqueda y síntesis de proteínas candidatas a antígenos vacunales, que además de tener un papel clave en la supervivencia de la garrapata y conferir una respuesta inmune adecuada, este basada en regiones conservadas. Entre las proteínas candidatas se encuentran las serpinas; proteínas altamente conservadas, involucradas en la alimentación, reproducción y respuesta inmune de mamíferos, artrópodos, insectos, etc. (Meekins *et al.*, 2017). En la garrapata *R. microplus* se han descrito 22 serpinas, de las cuales la serpina RmS17 presenta características de interés como: expresión en distintos órganos de la garrapata, función importante en la coagulación sanguínea y modulación de la respuesta inflamatoria; sugiriendo que podría ser un buen candidato vacunal (Tirloni *et al.*, 2016). Por tal motivo, el presente estudio tiene por objeto diseñar *in silico* un polipéptido derivado de la proteína RmS17 basado en regiones conservadas con mínima variabilidad y potencial antigénico.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Objetivo

Caracterizar un polipéptido derivado de la proteína RmS17 a partir de la cepa “Media Joya” de garrapatas *R. microplus* con el fin de evaluar el grado de conservación que existe con respecto a la cepa previamente reportada.

### Materiales y métodos

Se realizó un análisis *in silico* de la secuencia de aminoácidos de RmS17 reportada en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (AHC98668.1), con el fin de seleccionar un polipéptido diseñado a partir de características antigénicas utilizando distintos programas bioinformáticos. Para realizar los análisis de la estructura secundaria, se buscaron regiones hidrofóbicas utilizando la herramienta ProtScale, regiones transmembranales mediante la herramienta TMHMM y la presencia del péptido señal utilizando la herramienta SignalP 4.1. La predicción de epítomos de células B se llevó a cabo con diferentes algoritmos bioinformáticos, buscando dentro de la secuencia de aminoácidos características de un epítomo B como: Hidrofilicidad (Antigenic Plot), Antigénicidad (EMBOSS Antigenic) y epítomos lineales de células B (Bepipred 2.0 y BCELL/IEDB Analysis Resource). Así mismo, se realizó una predicción de la estructura secundaria y terciaria de la secuencia de aminoácidos utilizando los servidores Psipred y SWISS-MODEL respectivamente haciendo modelaje por homología. Además, se llevó a cabo una simulación del polipéptido caracterizado derivado de la proteína RmS17 mediante el servidor Protter.

Como material biológico se utilizaron órganos de garrapatas adultas *R. microplus* de la cepa denominada “Media Joya” proveniente de Tapalpa, Jalisco; con ellas se realizó la extracción de RNA total por el método Trizol®. El RNA obtenido se utilizó para la síntesis de DNA complementario (cDNA), mediante la técnica denominada RT-PCR (*Reacción en Cadena de la Polimerasa-Transcriptasa Reversa*). Se diseñaron un par de iniciadores específicos para amplificar el fragmento de interés con el programa OligoAnalyzer. Se estandarizó mediante la técnica de PCR punto final la amplificación del polipéptido tomando como molde el cDNA de la cepa “Media Joya” previamente sintetizado. Los amplicones obtenidos fueron separados mediante la técnica de electroforesis en un gel de agarosa al 1% para estimar el tamaño de los fragmentos amplificados esperados (435 bp), por comparación con un marcador molecular de 1 Kb y visualizados por exposición UV. Posteriormente, se llevó a cabo la clonación utilizando un vector optimizado para secuenciación (pCR®4- TOPO®) y células competentes de *E. coli* Top 10®. Las colonias recombinantes fueron evaluadas mediante PCR de colonia y de las clonas positivas obtenidas se realizó la extracción y purificación del DNA plasmídico mediante el método de lisis alcalina con fines de secuenciación. Las muestras fueron secuenciadas en el Instituto de Biotecnología (IBT) de la UNAM. Finalmente, de las secuencias obtenidas se realizaron los análisis correspondientes para evaluar la identidad y similitud que presentaba el polipéptido con respecto a la cepa previamente reportada en el GenBank (KC990116.1).

### Resultados y discusión

Se caracterizó un polipéptido derivado de la proteína RmS17, el cual está constituido por 435 bp equivalente a 145 aminoácidos; localizada entre los residuos 215 y 359 de la proteína completa. En



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

los residuos 356 y 357 se localiza el enlace escindible P1-P1' del sitio central reactivo (RCL), el cual le brinda especificidad a las serpinas frente a la proteasa blanco para realizar su función inhibitoria (Gettins, 2002; Tirloni *et al.*, 2014). El polipéptido caracterizado carece de péptido señal y región transmembranal demostrando que se trata de un péptido intracelular. También se predijo dentro del polipéptido una región hidrofóbica.

El diseño de antígenos vacunales basados en epítomos de células B se ha llevado a cabo en otros modelos de investigación como *Babesia* spp. y *Plasmodium falciparum*, estimulando una respuesta inmune innata y adaptativa efectiva frente a los parásitos (Mahajan *et al.*, 2010; Mosqueda *et al.*, 2012). De acuerdo con estas investigaciones, se sugiere que las tres regiones que fueron predichas como posibles epítomos de células B en el polipéptido caracterizado podrían inducir una respuesta inmune similar (Fig. 1). Por otro lado, la presencia del sitio de N-glicosilación localizado en el residuo 48 del polipéptido caracterizado podría incrementar la activación de las células T, así como se ha reportado en proteínas de la membrana del virus de influenza (Hütter *et al.*, 2013). La estructura secundaria y terciaria se predijo sugiriendo que el polipéptido está constituido por 4 hélices alfa, 6 láminas beta y una amplia proporción de giros aleatorios.

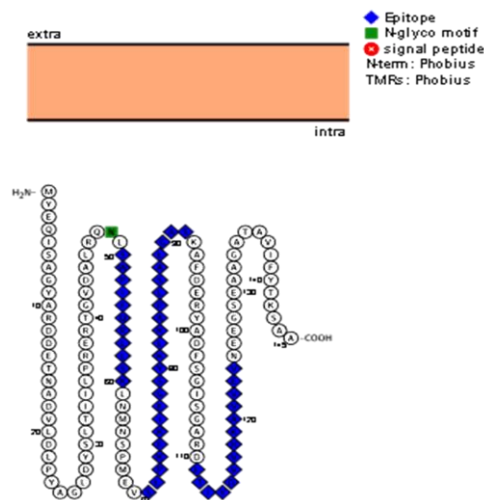


Figura 1. Simulación personalizada del polipéptido caracterizado de RmS-17 mediante el programa Protter. Se observa la secuencia de aminoácidos donde es posible apreciar los tres epítomos B (Residuos: 50-60, 70-92, 111-124; color azul) y el sitio de N-glicosilación (residuo 48; color verde).

Se amplificó el polipéptido caracterizado a partir de la técnica de PCR punto final obteniendo la amplificación del producto esperado (435 bp) (Fig. 2A). Se obtuvieron 5 clonas positivas (Fig. 2B), con las cuales se extrajo y purificó el DNA plasmídico enviado a la Unidad de Secuenciación del IBT de la UNAM para obtener las secuencias del polipéptido caracterizado.





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

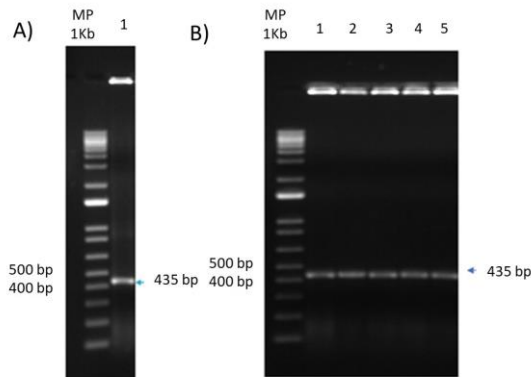


Figura 2. Amplificación del polipéptido RmS17 de la garrapata *R. microplus* de la cepa “Media Joya”. A) Amplificación del fragmento de interés RmS-17 equivalente a 435 bp. B) Clonas positivas obtenidas a partir de la técnica de PCR punto final. Gel de agarosa al 1% con Buffer TBE 1X, MP: marcador de peso molecular 1 Kb.

La secuencia codificante obtenida a partir de la cepa “Media Joya” mostró 4 (0.9%) mutaciones a nivel de nucleótidos y ningún polimorfismo con respecto a la secuencia reportada de la cepa “Porto Alegre” en Brasil. Así mismo, se observó un 99.08% de identidad a nivel de nucleótidos y 100% de similitud a nivel de aminoácidos sugiriendo un alto grado de conservación en la secuencia del polipéptido entre ambas cepas. En estudios realizados previamente con la proteína Bm86 reportaron que una diferencia mayor al 2.8% en la secuencia de aminoácidos podría causar una respuesta inmune ineficiente a la vacunación (García-García *et al.*, 1999), por lo que posiblemente el polipéptido caracterizado en esta investigación podría generar una buena respuesta inmune al momento de utilizarla como candidato a vacuna.

### Conclusión

Se logró caracterizar un polipéptido derivado de la proteína de RmS17 de la cepa de garrapata *R. microplus* “Media Joya”, el cual no presenta polimorfismos en la secuencia de aminoácidos en comparación con la cepa previamente reportada; demostrando que existe un elevado grado de conservación entre las cepas de México y Brasil.

### Implicaciones

Se requiere evaluar el grado de conservación que existe del polipéptido derivado de la proteína RmS17 de garrapatas *R. microplus* en diferentes zonas geográficas de México con el fin de localizar posibles polimorfismos en los diferentes aislados del país.

### Fuente financiadora

Instituto Nacional de investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), proyecto titulado: “Expresión de un polipéptido recombinante derivado de la proteína RmS17 de *Rhipicephalus microplus* con potencial inmunogénico”, con N° SIGI: 10533234452.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- De la Fuente, J. and Kocan K. (2003). Advances in the identification and characterization of protective antigens for recombinant vaccines against tick infestations. *Expert Review of Vaccines*; 2(4): 583-503.
- García-García, J., González, I., González, D., Valdés, M. Méndez, L., Lamberti, J., D'agostino, B., Citroni, D., Fragoso, F., Ortiz, M., Rodríguez M. and de la Fuente, J. (1999). Sequence variations in the *Boophilus microplus* Bm86 locus and implications for immunoprotection in cattle vaccinated with this antigen. *Experimental and Applied Acarology*; 23: 883–895.
- Gettins, P. (2002). Serpin Structure, Mechanism, and Function. *Chemical Reviews*; 102: 4751-4803.
- Hütter, J., Rödig, J., Höper, D., Seeberger, P., Reichl, U., Rapp, E. and Lepenies, B. (2013). Toward animal cell culture–based influenza vaccine design: viral hemagglutinin N-glycosylation markedly impacts immunogenicity. *The Journal of Immunology*; 190:220-230.
- Mahajan B, Berzofsky JA, Boykins RA, Majam V, Zheng H, Chattopadhyay R, et al. (2010) Multiple antigen peptide vaccines against *Plasmodium falciparum* malaria. *Infection and Immunity*; 78: 4613-4624.
- Mosqueda, J.J., Camacho-Nuez, M., Falcón, A., Ramos, J.A., Canto, G., Aguilar, G., Olvera, A. (2012). Estrategias inmunológicas y bioinformáticas para el control de la babesiosis bovina. *Revista México Ciencia Pecuaria*; 3 (1): 51-59.
- Meekins, D., Kanost, M., Michel, K. (2017). Serpins in arthropod biology. *Seminars in Cell & Developmental Biology*; 62: 105-119.
- Ostfeld, R. S., Price, A., Hornbostel, V. Benjamin, M. and Keesing, F. (2006). Controlling Ticks and Tick-borne Zoonoses with Biological and Chemical Agents. *BioScience*; 56 (5):383 -394.
- Tirloni, L., Seixas, A., Mulenga, A., Da Silva Vaz Jr., I., Termignoni, C. (2014). A family of serine protease inhibitors (serpins) in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Experimental Parasitology*; 137:25–34.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ALGORITMO BASADO EN EL USO DE PROTEOMICA Y ONTOLOGÍA PARA IDENTIFICACIÓN DE ANTIGENOS CANDIDATOS A VACUNAS ANTIGARRAPATAS

### ALGORITHM BASED ON THE USE OF PROTEOMICS AND ONTOLOGY FOR THE IDENTIFICATION OF ANTIGEN CANDIDATES TO VACCINES AGAINST TICKS

Merino CJO\*<sup>1</sup> De la Cruz HNI<sup>1</sup>, Lagunes QRE<sup>2</sup>, Rabago CJ, De La Fuente GJ<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km. 5, Carretera Victoria-Mante, Cd. Victoria, Tam., México. CP 87000.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP. AP 206, Civac, Jiutepec, Mor., México. CP 62550.

<sup>3</sup>SaBio. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC-CSIC-UCLM-JCCM, Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, España.

omerino@uat.edu.mx

Palabras clave: Algoritmo, Proteómica, Garrapatas.

#### Introducción

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos de gran importancia, debido a la gran variedad de patógenos que son capaces de transmitir, además de producir pérdidas económicas debido al costo que representa su control y erradicación. El método de control que se ha utilizado durante mucho tiempo ha sido mediante la aplicación de acaricidas, sin embargo, el uso no controlado y la alta exposición que los parásitos han tenido a estos químicos han propiciado la generación de resistencia a estos productos y una alta contaminación ambiental respectivamente (Rosario-Cruz *et al.*, 2009). Por tal motivo se requiere desarrollar otros métodos alternativos de control más amigables con el medio ambiente y que disminuyan tanto las infestaciones por garrapatas como la transmisión de enfermedades por este artrópodo (Merino *et al.*, 2011).

El control inmunológico usando antígenos de garrapata ofrece una alternativa más atractiva y amigable al uso de acaricidas. Dichas vacunas contienen el antígeno recombinante BM86 derivado de *Boophilus microplus* y se han comercializado bajo el nombre de TickGARD® en Australia y GAVAC® en Latino América, no obstante, los factores por los cuales el uso de la vacunación no fue totalmente aceptada fueron la falta de eficacia contra especies de garrapatas distintas a *B. microplus*, la falta de derribe observable y la persistente infección del ganado por los distintos patógenos transmitidos por las garrapatas (de la Fuente *et al.*, 1999; Moreno-Cid *et al.*, 2013).

Recientemente algunos antígenos como 4D8, Bm95 y Ba86 se han utilizados como control inmunológico de garrapatas, éstos al ser inoculados en animales producen anticuerpos que, al contacto con las garrapatas, producen lisis en células intestinales y consecuentemente, reducción en la supervivencia del artrópodo, disminuyendo los parámetros reproductivos y aumentando la mortalidad (Merino *et al.*, 2011; de la Fuente *et al.*, 2013). Aunado a eso la vacunación con otras proteínas involucradas en las interacciones garrapata-patógeno han demostrado reducción de la infestación por garrapatas e infección por patógenos lo cual respalda el uso de nuevas proteínas para el desarrollo de una vacuna que controle las infestaciones por garrapatas y la infección por patógenos (Merino *et al.*, 2013). Sin embargo; dada la gran cantidad de nuevos candidatos a



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

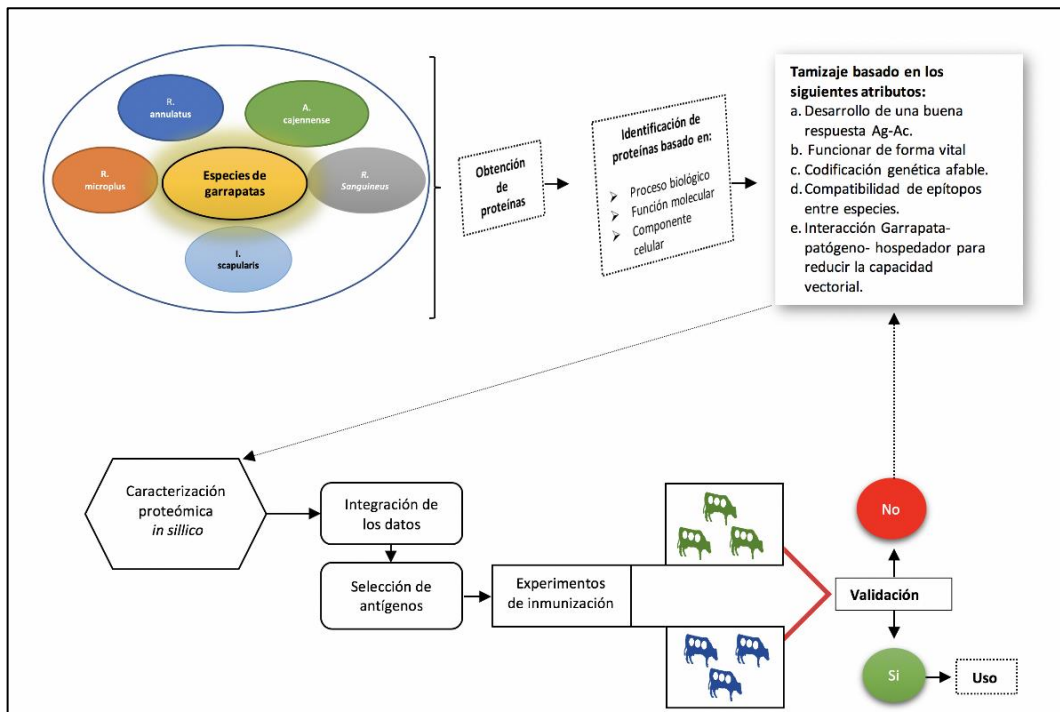
antígenos protectores propuestos, es necesaria una correcta selección y caracterización de las proteínas que se utilizarán en ensayos de inmunización para la correcta validación como antígenos protectores. Dicha selección consiste en caracterizar y seleccionar aquellas proteínas que cumplan con los atributos deseables siguientes:

a) El candidato a antígeno debe ser de fácil acceso a la respuesta inmune del hospedador. b) El antígeno debe tener una función importante en la garrapata de forma tal, que, si dicha función es interrumpida, podría causar la muerte del artrópodo o una disminución impactante en la fecundidad y por ende una disminución en las poblaciones. c) Es deseable que el antígeno sea codificado por un solo gen con un bajo número de copias y que no pertenezca a una familia de genes para evaluar su función específica. d) Con la finalidad de implementar un control en distintas especies e inclusive contra otros artrópodos, el antígeno debe presentar y compartir epítomos conservados entre ellas. e) Finalmente el antígeno ideal debería reducir capacidad vectorial de las garrapatas para la transmisión de patógenos (Flower *et al.*, 2010; Maritz-Olivier *et al.*, 2012). Por lo tanto, en la presente investigación se presenta un algoritmo basado en la utilización de proteómica mediante un riguroso análisis, aquellas proteínas que reúnan las características deseables del antígeno ideal y que puedan ser susceptibles de usar como candidatos a antígenos para el control de las infestaciones por garrapata.

### Objetivo

Proponer el uso de un algoritmo para la mejora en la identificación de las proteínas de garrapata que cuenten con los atributos deseables, para actuar como antígeno contra infestaciones por varias especies de garrapata.

### Materiales y métodos





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Resultados y discusión

El análisis del proteoma en las especies de garrapata que pudieran compartir ciertas regiones geográficas, así como hospedadores podría proveer los candidatos idóneos para ser usados como antígenos contra infestaciones por varias especies de garrapatas. Se espera como resultado principal la generación de información básica que sirva para seleccionar los candidatos a antígenos contra infestaciones por garrapatas. Dicha información deberá ser validada por los resultados obtenidos en los experimentos de inmunización, de lo contrario el análisis de las proteínas tendrá que hacerse de forma más rigurosa con la finalidad de disminuir el número de candidatos y aumentar la eficacia en la selección de estos.

### Conclusiones

Los ectoparásitos hematófagos como las garrapatas, además de causar disminución en las ganancias directamente por el rol expoliatriz, son vectores de patógenos tanto en animales como en humanos. No obstante, su control ha sido costoso y difícil, aunado a esto el control químico representa una fuente de contaminación para el medio ambiente y genera resistencia en las poblaciones de garrapatas sometidas a presión de selección con los distintos acaricidas.

Por lo tanto, en el presente trabajo destacamos un algoritmo que nos permite utilizar herramientas de proteómica, ontología y bioinformática para la identificación de proteínas, que se puedan utilizar en ensayos de inmunización para la correcta validación como antígenos protectores contra infestaciones por garrapatas mediante el método inmunológico, esto concuerda con lo publicado por Flower *et al.* (2010), quien propone el uso de algunas tecnologías de bioinformática para el descubrimiento de nuevos antígenos y para la caracterización de las propiedades físico-químicas de los candidatos a antígenos. Tal y como lo indica una propuesta similar llevada a cabo por Maritz-Olivier *et al.* (2012); dicha selección consiste en caracterizar y seleccionar aquellas proteínas que cumplan con los mejores atributos y que puedan controlar las infestaciones por garrapatas y la infección por patógenos que estas transmiten, por lo tanto, la propuesta presentada en este trabajo es de suma importancia y los análisis posteriores de estas proteínas serán la base para el desarrollo de futuras vacunas para el control de estos ectoparásitos.

### Fuente financiadora

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y la Secretaría de Educación Pública a través del proyecto CB-2015-01- 255205-019 “Caracterización proteómica de *Rhipicephalus microplus*, *R. annulatus* y *Amblyomma cajennense* para el control de infestaciones en bovinos” aprobado en la convocatoria SEP-CONACYT 2015. Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación

### Referencias bibliográficas

Rosario-Cruz R., Almazan C., Miller R.J., Dominguez-Garcia D.I., Hernandez-Ortiz R., de la Fuente J. Genetic basis and impact of tick acaricide resistance. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009 Jan 1;14:2657-65.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

- de la Fuente J, Rodríguez M, Montero C, Redondo M, García-García JC, Méndez L, et al. Vaccination against ticks (*Boophilus* spp.): the experience with the Bm86-based vaccine GavacTM. *Genet Anal: Biomol Eng* 1999;15 143–8.
- Moreno-Cid JA, Perez de la Lastra JM, Villar M, Jimenez M, Pinal R, Estrada-Peña A, et al. Control of multiple arthropod vector infestations with subolesin/akirin vaccines. *Vaccine* 2013;31:1187–96.
- Merino, O., Almazán, C., Canales, M., Villar, M., Moreno-Cid, J.A., Galindo R.C., de la Fuente, J. 2011. Targeting the tick protective antigen subolesin reduces vector infestations and pathogen infection by *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina*. *Vaccine* 29: 8575– 8579. ISSN: 0264-410X.
- de la Fuente, J., Moreno-Cid, J.A., Villar, M., Galindo, R.C., Almazán, C., Kocan, K.M., Merino, O., Pérez de la Lastra, J.M., Estrada-Peña, A., Blouin, E.F. 2013. Subolesin/Akirin vaccines for the control of arthropod vectors and vector-borne pathogens. *Transboundary and Emerging Diseases*.
- Merino, O., Antunes, S., Mosqueda, J., Moreno-Cid, J., Pérez de la Lastra, J., Rosario-Cruz, R., Rodríguez, S., Domingos, A., de la Fuente, J. 2013. Vaccination with proteins involved in tick-pathogen interactions reduces vector infestations and pathogen infection. *Vaccine*. Vol. 31 Issue: 40. 5889-5896.
- Flower, D.R., Macdonald, I.K., Ramakrishnan, K., Davies, M.N., Doytchinova, I.A., 2010. Computer aided selection of candidate vaccine antigens. *Immunome Res*. 6 Suppl 2. S1.
- Maritz-Olivier, C., van Zyl, W., Stutzer, C., 2012. A systematic, functional genomics, and reverse vaccinology approach to the identification of vaccine candidates in the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Dis*. 3, 179-187.
- Petersen, T.N., Brunak, S., von, H.G. y Nielsen, H. 2011. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nature Methods* 8:785-786.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO IXODICIDA DE EXTRACTOS VEGETALES DE CANELA, AJO Y TAGETES SOBRE MORTALIDAD DE GARRAPATAS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

***in vitro* EVALUATION OF THE IXODICIDE EFFECT OF VEGETABLE EXTRACTS OF CINNAMON, GARLIC AND TAGETES ON THE MORTALITY OF TICKS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

Miranda RPI\*<sup>1</sup>, Martínez IF<sup>2</sup>, Lagunes QRE<sup>3</sup>, Barrera MAI<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Nutrición. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Calle Ixtaccíhuatl 100, Vista Hermosa, 62350 Cuernavaca, Mor.

<sup>2</sup>Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Blvd. Paseo Cuauhnáhuac num 8532, Progreso, 62550 Progreso, Mor.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Blvd. Paseo Cuauhnáhuac num 8532, Progreso, 62550 Progreso, Mor.  
perla.mirandarye@uaem.edu.mx

## Resumen

La creciente demanda de productos de origen animal por parte de la población ha dado lugar a la intensificación de los sistemas de producción agropecuarios, en particular la producción de ganado bovino. Esta situación ha conducido a que los animales de las explotaciones pecuarias se vean expuestos al incremento de enfermedades de diversa índole, lo que trae consigo una mayor utilización de productos de uso veterinario como pesticidas y antiparasitarios. El uso indiscriminado de estos químicos ocasiona la presencia de residuos en los alimentos de origen pecuario; lo cual, pone de manifiesto el manejo indebido de los fármacos durante las prácticas agropecuarias y el incumplimiento de los tiempos de retiro de los pesticidas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de extractos vegetales comerciales de canela, ajo y tagetes sobre la sobrevivencia de larvas de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* con la finalidad de generar una alternativa natural que pueda controlar poblaciones de garrapatas sin afectar los subproductos derivados de los animales ni ocasionar daños a la salud pública. La actividad ixodicida se evaluó mediante la técnica de paquete de larvas de Stone y Haydock (1962). Las larvas de *R. (Boophilus) microplus* fueron expuestas durante 24 horas, a 10 diferentes concentraciones de extracto de Canela, Ajo y Tagetes, realizando tres repeticiones para los grupos tratados y controles. El extracto que presentó una mayor eficacia fue el extracto de Canela obteniendo una mortalidad del 50% con la concentración de 1.5 % y una mortalidad de 100% con la concentración al 3% del producto. Se concluye que el extracto de Canela podría ser una alternativa viable para el control de garrapatas, lo cual reduciría el uso intensivo de ixodicidas y todos los problemas que conlleva.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## INFLUENCIA DEL CALOSTRO EN BECERROS NACIDOS EN UNA REGIÓN ENDÉMICA DE *Rhipicephalus microplus*

### COLOSTRUM INFLUENCE ON NEW BORN CALVES IN A *Rhipicephalus microplus* ENDEMIC REGION

Patiño BLF\*<sup>1</sup>, Cantó AGJ<sup>1</sup>, Milián SF<sup>1</sup>, Hernández SDJ<sup>1</sup>, Guerrero SRI<sup>2</sup>, Calderón RRC<sup>3</sup>, Vega YMCA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Naturales / UAQ. <sup>2</sup>FMVZ / UNAM. <sup>3</sup>SE Las Margaritas, CIR-Golfo / INIFAP  
luisafdabotellomv@gmail.com

Palabras clave: Calostro, bovinos, hemoparásitos.

#### Resumen

Se hipotetiza que el neonato depende de la ingesta del calostro proporcionado por su madre durante las primeras horas de vida; el propósito consistió en verificar su papel en la resistencia contra *Babesia bovis*, *B. bigemina* y *Anaplasma marginale* en becerros nacidos en una zona endémica de *R. microplus*. Se seleccionaron 26 vacas,  $\frac{3}{4}$  Pardo suizo/Holstein  $\frac{1}{4}$  Brahman, próximas al parto en un rancho de Hueytamalco, Puebla. Al parto, 10 becerros recibieron calostro comercial y 16 calostro materno (grupos CC y CM). Se tomaron muestras de sangre y suero de las madres antes del parto y de los becerros, entre 0 y 6 horas post-nacimiento, a las 24 horas post-calostro y semanalmente hasta los 6 meses de edad. A las muestras obtenidas se les realizaron estudios serológicos y moleculares. La temperatura rectal y el volumen celular aglomerado (VCA) fueron monitoreados sólo en los becerros. Las seroprevalencias de las madres fueron: 95% para *B. bovis*, 93% para *B. bigemina* y 83% para *A. marginale*. Se observó fiebre y disminución del VCA, en los animales de los grupos CC (7/10) y CM (13/16) a partir de la 5<sup>a</sup> y 7<sup>a</sup> semanas de vida respectivamente. Al frotis sanguíneo, nunca se encontraron becerros positivos a *B. bovis* y sólo 4 a *B. bigemina*, dentro del grupo CM. Para el caso de la anaplasmosis, ésta se observó en los frotis en todos los becerros a partir de la 3<sup>a</sup> semana de vida. De acuerdo con estos resultados, se infiere que el calostro no influyó en la inmunidad en contra de *A. marginale*, al no encontrar diferencia significativa entre grupos experimentales. Para babesiosis, ninguno de los animales presentó signos clínicos simultáneamente congruentes; por lo tanto, se concluyó que sin importar el origen del calostro los becerros son capaces de controlar la infección a una temprana edad.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE GARRAPATA QUE INFESTAN AL VENADO COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS

Ramírez GPN\*<sup>1</sup>, De la Cruz HNI<sup>1</sup>, Lagunes QRE<sup>2</sup>, Carvajal DV<sup>1</sup>, Merino CJO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km. 5, Carretera Victoria-Mante, Cd. Victoria, Tam., México. CP 87000

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP. AP 206, Cívac, Jiutepec, Mor., México. CP 62550  
pewenator300@gmail.com

Palabras clave: Garrapatas, venado, Tamaulipas

### Resumen

Las garrapatas constituyen uno de los ectoparásitos más importantes que existen, debido a los daños que ocasionan al ganado, a los animales de compañía y a las especies silvestres como el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) además se fungir como vectores de enfermedades en animales y humanos. En el noreste de México, el aprovechamiento del venado a través de la caza deportiva ha permitido el desarrollo de nuevas empresas cinegéticas, las cuales, además de contribuir a la economía rural, son también motivo de rescate y recuperación de la vida silvestre y sus diferentes ecosistemas, sin embargo, la presencia de garrapatas en el venado ha provocado daños como anemia, desnutrición y daños tisulares lo cual conlleva a una disminución en las ganancias. En Tamaulipas no se cuenta con la información suficiente para la identificación de las diversas garrapatas que afectan al venado, y que permita prevenir algún tipo de brote de enfermedades asociado al papel vector de la garrapata o simple mente saber que tipo de garrapata está presente en nuestro entorno y tomar las medidas necesarias para su control. Por lo tanto, en la presente investigación se identificaron las garrapatas más comunes en los venados del Estado mediante la colección de garrapatas de animales cazados con la finalidad de aplicar planes de control en ranchos cinegéticos y estudiar el rol que juegan en salud pública. Una vez obtenidas las garrapatas fueron transportadas al laboratorio de la FMVZ, UAT para su identificación morfológica. Los resultados demuestran que del total de las muestras obtenidas (42) la garrapata con mayor presencia fue *R. microplus* con 30 especímenes seguido de *Amblyomma spp* con 10 e *Ixodes scapularis* con 2. Estos resultados difieren de los reportados en la literatura, donde reportan una mayor presencia de *Amblyomma spp* en *O. virginianus*.

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y la Secretaría de Educación Pública a través del proyecto CB-2015-01- 255205-019 “Caracterización proteómica de *Rhipicephalus microplus*, *R. annulatus* y *Amblyomma cajenense* para el control de infestaciones en bovinos” aprobado en la convocatoria SEP-CONACYT 2015. Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## POLIMORFISMOS EN EL GEN DEL CANAL DE CLORO EN GARRAPATAS *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* RESISTENTE A IVERMECTINA.

## CHLORIDE CHANNEL GENE POLYMORPHISMS IN *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* TICKS RESISTANT TO IVERMECTIN.

Rodríguez AEM<sup>2</sup>, Maldonado de Jesús MF<sup>2</sup>, Hernández OR<sup>1\*</sup>, Lagunes QRE<sup>1</sup>, Castro SE<sup>1</sup>,  
Granjeno CG<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CENID-Salud Animal e Inocuidad / INIFAP, Jiutepec, Mor.; <sup>2</sup>Ingeniería en Biotecnología / UPEMOR hernandez.ruben@inifap.gob.mx

Palabras clave. Canal de cloro, Garrapatas, ivermectina, resistencia.

### Introducción.

La garrapata *R. (B) microplus* es una especie considerada como una de las plagas de mayor impacto para el sector pecuario a nivel mundial, debido a que causan grandes pérdidas económicas en la producción de carne y leche, alto costo para su control, daños a las pieles y transmisión de patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*, los cuales provocan enfermedades en el ganado (Ortiz y Prada, 2016). De acuerdo a investigaciones previas, México es uno de los países a nivel mundial en exportar y obtener un fuerte ingreso de divisas a partir de la producción y comercialización de ganado bovino. Debido a las fuertes infestaciones de garrapatas en la frontera con Estados Unidos de América se ha implementado la cuarentena de animales infestados pudiendo ocasionar el cierre del mercado, con la consecuente pérdida de entrada de divisas a nuestro país (Gonzalez y Hernández, 2012). Con el tiempo se han utilizado diferentes métodos de control de garrapatas, como el uso de tratamientos con ixodicidas químicos, sin embargo, debido al uso intensivo e irracional surgieron garrapatas resistentes a dichos tratamientos. El diagnóstico temprano de poblaciones resistentes, nos permitirá hacer un uso más eficiente de ixodicidas, para ello es necesario conocer y estudiar las moléculas involucradas con garrapatas resistentes, tanto a nivel toxicológico como molecular.

### Objetivo.

Identificar polimorfismos en la secuencia del gen de canal de cloro en garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* de poblaciones susceptibles y resistentes a ivermectina.

### Materiales y métodos

Garrapatas. Se utilizaron las cepas Media Joya (MJ) y Huastecas, la primera es una cepa susceptible a ixodicidas, aislada en Tapalpa, Jalisco y mantenida libre de contacto con pesticidas desde 2001; la segunda es una cepa aislada en Aldama, Tamaulipas, presionada con ivermectina durante 14 generaciones; ambas mantenidas mediante infestaciones periódicas en ganado bovino en el CENID-Salud Animal e Inocuidad del INIFAP en Jiutepec, Morelos.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Extracción de RNA y síntesis de cDNA. Las larvas de garrapata se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos y se pesaron 0.18 g. Posteriormente se maceraron en un mortero de porcelana estéril (almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ ); para la extracción de RNA se utilizó el protocolo de TRIzol® Reagent, siguiendo las indicaciones del fabricante. El RNA se cuantificó por espectrofotometría utilizando un Nanodrop®. Para la síntesis de DNA complementario (cDNA), se utilizó el kit comercial RevertAid® con transcriptasa reversa, siguiendo las indicaciones del fabricante.

Amplificación por PCR. Se diseñaron oligonucleótidos primers con base en la secuencia reportada en el GenBank con número de acceso KF881800.1 (NCBI), que codifica para el canal de cloro activado por glutamato. Para clonar y secuenciar el fragmento de 1353 pb, los productos de PCR se clonaron utilizando el kit de Clonación TOPO TA Cloning for sequence (Invitrogen™), siguiendo las indicaciones del fabricante; finalmente los productos clonados se enviaron para secuenciación de forma comercial al Instituto de Biotecnología de la UNAM, en Cuernavaca, Morelos (Maldonado de Jesús, 2017).

Para la realización del análisis bioinformático se compararon secuencias de nucleótidos obtenidas de diferentes generaciones de las cepas Media Joya y Huastecas, y se alinearon con la secuencia de referencia reportada en el GenBank del NCBI con número de acceso KF881800.1, y la cepa Mozo con número de acceso GU562859.1.

Las secuencias de nucleótidos se alinearon en tres programas: MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>), CLC Sequence Viewer 7 (<https://www.qiagenbioinformatics.com/products/clc-sequence-viewer/>), y BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.1. (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Para la traducción de nucleótidos a proteína se utilizó el programa CLC Sequence Viewer 7 (<https://www.qiagenbioinformatics.com/products/clc-sequence-viewer/>), identificándose sustituciones en la secuencia de aminoácidos, resultado de los polimorfismos encontrados.

### Resultados.

Para encontrar las mutaciones en las secuencias de nucleótidos de las cepas MJ susceptible y H resistente, se realizó un consenso, posteriormente un alineamiento con la cepa reportada en el GENBANK (KF881800.1) utilizada como referencia de tipo silvestre. Al llevar al cabo el alineamiento entre las tres cepas, se observó que existen seis mutaciones en las posiciones 498 (T/C), 570 (G/A), 991 (G/A), 1026 (G/A), 1172 (A/G) y 1229 (G/A), respecto a la secuencia de nucleótidos de referencia. Posteriormente se realizó la traducción para convertir la secuencia a proteína y se alinearon las secuencias de aminoácidos. De las seis mutaciones identificadas, dos no modifican la secuencia de aminoácidos, mientras las otras producen cuatro sustituciones de aminoácidos en las posiciones 331 (A/T), 342 (R/H), 391 (Q/R) y 410 (R/K) respecto de la proteína predicha.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

HUASTECAS	ASLPPVSYTKAIDVWTVGCLTFVFGALLEFTLVNYASRSDSHRQNTQKQKQRKWELEPPL
KF881800.1	ASLPPVSYTKAIDVWTVGCLTFVFGALLEFALVNYASRSDSRRQNTQKQKQRKWELEPPL
360	
MEDIA JOYA	ASLPPVSYTKAIDVWTVGCLTFVFGALLEFALVNYASRSDSRRQNTQKQKQRKWELEPPL
HUASTECAS	DSDHLEDGATTFAMRPLVHHHGELHADKLRQCEVHMKTPKTNLCKAWLSKFPTRSKRIDV
KF881800.1	DSDHLEDGATTFAMRPLVHHHGELHADKLRQCEVHMKTPKTNLCKAWLSRFPTRSKRIDV
420	
MEDIA JOYA	DSDHLEDGATTFAMRPLVHHHGELHADKLRRCCEVHMKTPKTNLCKAWLSRFPTRSKRIDV

### Discusión y conclusiones.

La cepa Huastecas, originalmente aislada en un rancho de Tamaulipas en México, se eligió debido a los antecedentes de ineficacia al tratamiento con ivermectina de bovinos infestados naturalmente. Castro *et al.* (2017), aislaron y presionaron esta población con ivermectina, aplicada vía subcutánea en bovinos infestados de forma artificial, durante 14 generaciones, y utilizaron la cepa Media Joya como referencia susceptible.

Investigaciones realizadas con garrapatas en México, identificaron mutaciones en el gen del canal de cloro en garrapatas resistentes y susceptibles a ivermectina. Utilizando la cepa Mozo de Brasil (Genbank GU562859.1) y dos poblaciones mexicanas, observaron que existen mutaciones en relación con la cepa Mozo, pero no encontraron diferencias en la secuencia dentro de los aislados mexicanos resistentes y susceptibles a ivermectina (Aguilar *et al.* 2015).

Los polimorfismos encontrados en genes específicos, como en el presente trabajo, pudieran ser indicadores de la presión de selección a la que están siendo sometidas las poblaciones de garrapatas en campo. En este caso, se observó que la cepa Huastecas, la cual ha sido presionada con tratamiento de ivermectina directamente en los bovinos infestados durante más de 14 generaciones, ha conducido a la selección de individuos con fenotipo de resistencia. Actualmente se analizan las cuatro mutaciones y su relación con individuos resistentes, de tal forma que podamos asociar el fenotipo de garrapatas sobrevivientes a ivermectina (resistentes) con el o los genotipos producto de los polimorfismos encontrados.

Trabajo realizado con Fondos Fiscales INIFAP. Proyecto 11232433025.

### Referencias bibliográficas

Aguilar TG, Mosqueda JG, Cantó G, Klafke G, & Arellano F. (2016). Identificación de mutaciones en el canal de cloro dependiente de glutamato en *Rhipicephalus microplus* resistente y susceptible a las ivermectinas. *Quehacer Científico en Chiapas*, 11(2), 20–26.

BioEdit Sequence Alignment Editor 7.0.1. (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>).

Castro SE, Granjeno CG, Lagunes QRE & Hernández OR. Generación de una población de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a ivermectina, mediante presión química en bovinos infestados artificialmente. *Memorias. Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios, AC. Parasitología: "Un mundo, una salud"*. Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla., 9 - 11 Ago 2017: 237- 241.

CLC Sequence Viewer 7 (<https://www.qiagenbioinformatics.com/products/clc-sequence-viewer/>).

González SPJ, Hernández OR. (2012). *Boophilus microplus*: Estado actual de la resistencia a los



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

acaricidas en la frontera México - Estados Unidos y su impacto en la relación comercial. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 3(1), 1–8. Doi 10.2166/wpt.2012.035.

Maldonado de Jesús M.F. Caracterización del gen que codifica para el canal de cloro activado por glutamato de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Tesis de Licenciatura, Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Marzo 2017.

MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>).

NCBI. National Center for Biotechnology Information.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/all/?term=KF881800.1>

Ortiz E, Prada J. (2016). Las garrapatas del ganado bovino Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. ISBN: 978-92-9248-655-6.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EFFECTO SUB-LETAL DE MOXIDECTINA SOBRE EL ESCARABAJO ESTERCOLERO *Onthophagus landolti* HAROLD (Coleoptera: Scarabaeinae)

## SUB-LETHAL EFFECTS OF MOXIDECTIN ON THE DUNG BEETLE *Onthophagus landolti* HAROLD (Coleoptera: Scarabaeinae)

Rodríguez VRI<sup>1\*</sup>, Basto EG<sup>1</sup>, Reyes NE<sup>2</sup>, Arcila FW<sup>1</sup>, Ojeda CMM<sup>1</sup>, Trinidad MI<sup>1</sup>, Martínez MI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5, 97100 Mérida, Yucatán, México.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Av. Itzaes No. 490 × 59, Col. Centro, 97000 Mérida, Yucatán, México;

<sup>3</sup>Instituto de Ecología, A.C., Carretera Antigua a Coatepec 351, El Haya, 91070 Xalapa, Veracruz, México.

rivas@correo.uady.mx

Palabras clave: *Onthophagus landolti*, moxidectina, efecto sub-letal.

### Resumen

Las lactonas macrocíclicas pueden causar efectos adversos a los escarabajos estercoleros expuestos a residuos de estos endectocidas presentes en las heces. En este estudio se evaluó la sobrevivencia y fecundidad de los escarabajos adultos *Onthophagus landolti* Harold alimentados con heces de bovinos tratadas moxidectina, así como la emergencia de fases inmaduras de los escarabajos. Tres bovinos (*Bos indicus* x *B. taurus*) fueron inyectados subcutáneamente con moxidectina al 1% (0.2 mg kg<sup>-1</sup> p.v.) y tres bovinos fueron inyectados con moxidectina al 10% (1.0 mg/kg-1 p.v.). Las heces fueron colectadas de estos animales un día previo a la administración de moxidectina y a los 5 días post-tratamiento (DPT) de las concentraciones 1% y 10%, así como a los 14 días para el tratamiento al 10%. Se realizaron cuatro bioensayos: control usando heces sin moxidectina; moxidectina al 1% y al 10% a los 5 DPT y moxidectina al 10% a los 14 DPT. En cada réplica, un par de adultos de *O. landolti* fueron alimentados diariamente con 30 g de heces de acuerdo a cada tratamiento. No se observaron efectos letales en ninguno de los cuatro tratamientos. Se presentaron efectos sub-letales ( $P < 0.05$ ) en el tratamiento de moxidectina al 10% a los 5 y 14 DPT. La fecundidad se redujo en 78.2% y 54.9% a los 5 y 14 DPT, respectivamente, y la emergencia de imagos fue afectada negativamente en estos mismos tiempos. La aplicación de moxidectina en bovinos durante la época de máxima reproducción puede tener efectos adversos en los servicios ambientales que proveen los escarabajos estercoleros en los distintos sistemas de producción bovina en el trópico.

Esta investigación fue financiada por CONACYT-Ciencia Básica (253578).



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PRESENCIA DE MOSCAS HEMATOFAGAS Y SU RELACIÓN CON COMPORTAMIENTOS DEFENSIVOS EN VACAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ, COLOMBIA

## PRESENCE OF HEMATOFAGUS FLIES AND THEIR RELATIONSHIP WITH DEFENSIVE BEHAVIOR IN COWS OF THE SAVENNAH OF DE BOGOTÁ, COLOMBIA

Cubides CJA\*, Zuñiga LA, García CFE

Grupo de investigación e innovación en salud y bienestar animal, AGROSAVIA, Centro de  
investigación Tibaitatá, Mosquera, Colombia.  
jcubides@agrosavia.com

Palabras clave. *Haematobia*, estrés, ganadería de leche

### Resumen

La presencia de moscas hematófagas en los sistemas de ganadería de lechería especializada en Colombia son una problemática por el estrés a los animales por las picaduras, transmisión de otras enfermedades y costos de control. El objetivo del estudio fue establecer la prevalencia de moscas hematófagas (cargas por animal), lesiones producidas por la picadura y la relación con el número de comportamientos defensivos producidos por estas. Se estableció el tamaño muestral para detección de enfermedad de mínima prevalencia, el número de animales evaluados visualmente fueron 241 en 16 predios distribuidos en todo el departamento de Cundinamarca. Los animales se evaluaron por un flanco contando el número de moscas de cada una de las especies (*Haematobia irritans* y *Stomoxys calcitrans*) además de realizar la evaluación de número de comportamientos defensivos (patadas, latigazo con la cola o movimientos espásticos) en 1 minuto según metodología planteadas por otros autores. La prevalencia de *H. irritans* fue del 80.9% y de *S. calcitrans* fue del 59.3% teniendo conteos en promedio de  $60.4 \pm 21$  y  $21.2 \pm 5,3$ , respectivamente. Las máximas infestaciones fueron de 292 y 76 moscas animal. Todos los animales infestados presentaron movimientos defensivos en promedio  $8.6 \pm 9.6$  movimientos/min. La correlación de Pearson entre el número de moscas de *H. irritans* y los movimientos fue del 0.64, mostrando una correlación positiva moderada. El 6% de los animales presentaron lesiones severas por picaduras de moscas con presencia de úlceras y alopecia. El número de moscas por animal fue menor que el reportado por otros estudios en Norteamérica donde con promedios que oscilan entre 300 a 1000 moscas *H. irritans*, aun así el número de comportamientos defensivos son similares. Se continuaran estudios de la relación de las cargas de moscas hematófagas con el desempeño productivo y el estatus de resistencia a insecticidas.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ***Dermatobia hominis* EN BOVINOS DE ZONA TZELTAL DE CHIAPAS.**

## ***Dermatobia hominis* IN CATTLE OF A TZELTAL AREA OF CHIAPAS.**

Hernández JC<sup>1\*</sup>, Ojeda RNF<sup>1</sup>, Hernández MLN<sup>1</sup>, Gallegos TLG<sup>1</sup>, Rodríguez VRI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias. Km 25 Carr. Villahermosa-Teapa, CP.86800, Tabasco, México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km 13.5 Carr. Mérida-Xmatkuil, CP. 97100, Yucatán, México  
nojedar@hotmail.com

Palabras clave: Bovinos, Infestación, Dípteros.

### **Resumen**

La dermatobiosis cutánea bovina (DCB), también conocida como “Colmoyote” es una parasitosis zoonótica ocasionada por la presencia de los estadios larvarios del díptero *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). Se caracteriza por afectar al tejido cutáneo y subcutáneo de bovinos e incluso al humano. En el estado de Chiapas, este padecimiento ha resurgido como un problema que afecta a los bovinos de los pequeños productores quienes desconocen al agente causal y su prevención y tratamiento. Se reporta la presencia de *D. hominis* en bovinos en una zona Tzeltal de México. Se realizó un estudio observacional descriptivo en un rancho localizado en una región selvática del estado de Chiapas, México, la cual es una zona Tzeltal de difícil acceso por su ubicación. Se inspeccionaron 30 bovinos de diferentes edades, cruzas de cebú y simmental, criados bajo pastoreo extensivo. Los animales se inspeccionaron minuciosamente, en busca de lesiones en la piel. Se registró la presencia, el número y características de nódulos cutáneos. Se obtuvieron muestras de larvas extraídas de los nódulos. Las larvas colectadas fueron clasificadas taxonómicamente como *D. hominis*, dicho parásito ha sido reportado en regiones de Chiapas, sin embargo, en la zona estudiada, la frecuencia de los reportes ha aumentado en los últimos meses. En este estudio, se obtuvo una prevalencia de animales con lesiones del 13.33 % (4/30), las regiones corporales con lesiones en forma de nódulos fueron la cola, escapula y zona costo abdominal superior e inferior, lo cual coincide con lo reportado en la literatura. Se encontraron de uno a cinco nódulos por animal y de cada animal, se colectaron de uno a cuatro larvas en diferentes estadios de desarrollo. Se confirmó la presencia del díptero *D. hominis* en las lesiones de los animales inspeccionados. La cantidad de nódulos y de larvas encontradas representan una fuente de infección para otros animales e incluso el ser humano, sin embargo, se requieren mayores estudios para conocer la prevalencia de la enfermedad en la zona para determinar medidas de control y prevención en los bovinos y en los humanos.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LA COMBINACIÓN FLUAZURON + ABAMECTINA PARA EL CONTROL DE *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae) SOBRE GANADO NATURALMENTE INFESTADO

## BIOLOGICAL EVALUATION OF THE COMBINATION FLUAZURON + ABAMECTIN FOR THE CONTROL OF *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae) ON NATURALLY INFESTED LIVESTOCK

\*Osorio MJ<sup>1</sup>, Martínez IF

<sup>1</sup>CENAPA–SENASICA–SADER. Carr. Cuernavaca Cuautla No 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, México. C.P. 62550.  
joalu\_osorio@yahoo.com

Palabras Clave: *Haematobia irritans*; Fluazuron, Abamectina

### Introducción

La mosca del cuerno es una plaga importante del ganado en pastoreo con una amplia distribución geográfica en Norte y Latinoamérica (Foil & Hogsette 1994; Guglielmone *et al.*, 1997), actúa como vector de diversas enfermedades como anaplasmosis, filariasis, habronemiasis, ántrax, carbunco entre otras y las lesiones que producen en piel llegan a ser muy severas (Quiroz, 1986). Se ha estimado que infestaciones de 500 moscas/animal ocasionan una pérdida de sangre de 7 ml/día (Harris & Frazer, 1970), sin embargo las principales pérdidas se atribuyen al mal aprovechamiento de los pastos disminuyendo la ganancia de peso en 8-20% y la producción láctea en 10-40%, los sementales sufren disminución del libido disminuyendo los vientres fecundados. Las pérdidas por *H. irritans* son estimados en más de \$ 730 MDD anuales en los E.U. Los adultos son parásitos continuos de hábitos hematófagos y ambos sexos se alimentan noche y día hasta en 20-40 ocasiones (Arther, G. Robert 1997). El ciclo de vida es corto, en los E. U. la mosca del cuerno es capaz de producir 5-10 generaciones al año, 15 generaciones en gran parte del sur y hasta 18 en el sur de Florida. Las hembras depositan sus huevos individualmente en excretas frescas realizando hasta quince posturas de ≈24 huevos para un total de 360-400 huevos durante su vida, las larvas dan origen a las pupas que pueden sobrevivir al invierno gracias al fenómeno de diapausa facultativa (Kunz, 1991). Los adultos tienen una longevidad de 6-8 semanas con un radio de dispersión de 8 a 15 Km. En México su control se realiza principalmente con productos organofosforados, piretroides y en menor proporción fenilpirazolonas y avermectinas, lo que ha provocado cambios genéticos en las poblaciones de campo debido al ciclo de vida corto y alto potencial reproductivo, acelerando la presencia de genes que codifican resistencia. La resistencia hacia los piretroides ha sido reportada en varias regiones del mundo, incluyendo México, Canadá, Estados Unidos y Argentina (Kunz & Kemp 1994, Guglielmone *et al.* 1998), la resistencia hacia los organofosforados también se ha reportado en México (Almazan, *et al.* 2004) siendo el principal obstáculo que limitan el incremento en la producción pecuaria. Sobre este punto, la combinación Fluazuron 3.0g + Abamectina 0.5 g cbp 100 mL aplicada a una dosis de 10 ml/100 kg de P.V., es altamente promisorio para el control de cepas resistentes. El Fluazuron presenta como mecanismo de acción la inhibición de la síntesis de quitina interfiriendo en el proceso de muda y la Abamectina actúa uniéndose a los canales cloro, regulados por los receptores Glutamato y GABA en la membrana de las células nerviosa provocando hiperpolarización, parálisis y muerte.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## Objetivo

El presente trabajo tiene como objetivo constatar la efectividad biológica y persistencia de la combinación Fluazuron 3.0g + Abamectina 0.5 g cbp 100 mL aplicada a una dosis de 10 ml/100 kg de P.V. desafiando poblaciones de *H. irritans* sobre ganado naturalmente infestado en el Municipio de Playa Vicente, Veracruz.

## Materiales y métodos

Se realizó un conteo de moscas previo al tratamiento, seleccionando aleatoriamente 10 bovinos por grupos testigo y experimental, identificados con un arete plástico numerado y separados por una distancia mínima de 500 m, los grupos fueron lo más homogéneo posible en raza, sexo, edad y peso con infestaciones igual o superior a 100 moscas *H. irritans* por lado. Todos los animales del lote experimental se trataron tópicamente utilizando 10 ml/100 kg de P.V. de la cruz a la base de la cola. Los animales del grupo control no recibieron tratamiento alguno y se mantuvieron en un potrero separado. En la fase (pt), se realizaron conteos de moscas los días + 3, + 7, + 10, + 14, + 17, + 21, + 24, + 28, + 31, + 35, + 38, + 42, + 45, + 49 y + 52 sobre el lado izquierdo de los animales testigo y tratados (Cuadros 1, 2 y Gráfica 1), la información obtenida de las cargas parasitarias por día (pt), se analizaron mediante una comparación múltiple de medias estimando los porcentajes de control diario y global (Henderson & Tilton J. Economic Entomology 48:157, 1955). El análisis estadístico para determinar si existen diferencias entre el grupo control y el experimental fue el análisis de varianza (ANDEVA).

## Resultados

Los porcentajes de control durante los días + 3 al + 24 pt fueron de 100%, para disminuir a valores superiores al 82% los días + 28 al + 42, reduciéndose a 72.67, 43.66 y 2.43% los días+ 45, + 49 y + 52 (pt). Los porcentajes de control global alcanzaron valores de 94.82, 92.74, 89.15 y 82.33% para los días + 42, + 45, + 49 y + 52 respectivamente para un tiempo de 52 días de protección (Cuadro No. 3). No obstante, se recomienda en ganado en pastoreo, el uso de la formulación evaluada por un tiempo de 45 días, en los que la protección a la reinfestación y la efectividad biológica son sumamente aceptable para control de *H. irritans* bajo condiciones de campo. Al realizar un ANDEVA con los resultados obtenidos comparando el número de moscas del lote testigo y tratado, se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.01$ ).

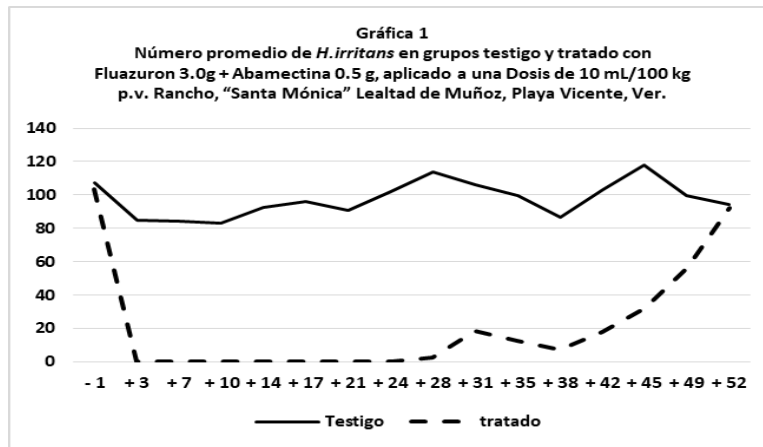
## Discusión y conclusiones

Los nuevos pesticidas con diferente mecanismo de acción, podrían sentar las bases para el control de plagas tanto agrícolas como pecuarias que han mutado para hacerse resistentes a diferentes familias químicas, sin embargo la investigación se ve desfavorecida ante la posibilidad de una resistencia cruzada hacia los nuevos productos, lo que reduciría su tiempo de uso. En México el presente estudio es el primero en su género desafiando la mosca del cuerno *Haematobia irritans* con la mezcla de Fluazuron 3.0g + Abamectina 0.5 g cbp 100 mL aplicada a una dosis de 10 ml/100 kg de p.v., cumpliendo de acuerdo a la NOM-006-ZOO-1993, con el requisito de efectividad biológica mínima de un 80% en el control de *H. irritans* por un tiempo de 52 días, con la limitante de que al combinar dos familias químicas con diferentes mecanismos de acción, se estarían presionado las



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

poblaciones de campo hacia dos plaguicidas, y la aplicación frecuente podría reducir su efectividad en un corto o mediano plazo. Por lo tanto, se recomienda planear una estrategia de uso dependiendo de la época del año y zona geográfica mediante la rotación de productos, calendarización de tratamientos estratégicos para disminuir los máximos picos de infestación, además del manejo integral de la plaga, evitando así, una alta presión de selección sobre las poblaciones de *H. irritans*, situación que puede ocasionar cambios en la respuesta toxicológica hacia esta formulación al exponerse a concentraciones no óptimas para su control. Por último la formulación evaluada será de gran utilidad en predios donde la resistencia hacia los piretroides y organofosforados se ha desarrollado.



**Cuadro 1.** Número de moscas *Haematobia irritans* contabilizadas sobre ganado naturalmente infestado en el grupo testigo, Rancho "Santa Mónica" Lealtad de Muñoz, Playa Vicente, Veracruz

No. Bov	Pret	Post - tratamiento														
	- 1	+ 3	+ 7	+	+	+	+	+ 24	+ 28	+ 31	+	+	+ 42	+ 45	+	+
740	102	42	56	40	60	70	80	96	120	110	85	65	90	112	84	91
731	98	74	62	69	54	63	75	83	95	80	70	81	125	90	96	110
730	120	80	54	75	120	84	60	51	76	116	94	61	87	135	110	84
740	145	120	94	80	92	110	120	135	150	145	110	73	110	140	125	106
187	95	110	136	120	100	135	85	120	160	120	136	148	145	124	66	79
138	99	65	84	90	115	90	110	124	80	70	54	62	83	111	73	86
729	120	90	72	87	90	78	95	116	135	110	115	133	100	96	65	94
736	103	114	125	110	134	148	110	135	154	115	129	106	116	138	116	123
731	91	90	71	95	70	90	105	86	70	95	83	63	81	121	129	75
165	99	62	87	63	88	90	65	72	95	100	120	76	94	115	130	98
Σ	107	847	841	829	923	958	905	101	113	106	996	868	103	118	994	946
X	107.	84.	84.	82.	92.	95.	90.	101.	113.	106.	99.	86.	103.	118.	99.	94.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

**Cuadro 2.** Número de moscas *Haematobia irritans* contabilizadas sobre ganado naturalmente infestado en el grupo tratado, Rancho "Santa Mónica" Lealtad de Muñoz, Playa Vicente, Veracruz

No. Bov	Pret.	Post - tratamiento															
		+ 3	+ 7	+	+	+	+	+	+ 24	+ 28	+ 31	+	+	+ 42	+ 45	+	+
7359	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	8	8	16	21	39	67
108	101	0	0	0	0	0	0	0	0	6	18	11	6	22	30	46	78
110	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	19	34	59
8738	103	0	0	0	0	0	0	0	0	12	35	21	12	24	32	52	95
116	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	13	8	19	42	67	105
7308	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	25	58	96
122	99	0	0	0	0	0	0	0	0	8	30	16	9	21	38	63	121
7356	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	28	10	24	44	78	115
7305	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	22	14	19	33	59	89
179	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	8	6	17	39	64	98
∑	1037	0	0	0	0	0	0	0	0	26	184	127	73	181	323	560	923
X	103.7	0	0	0	0	0	0	0	0	2.6	18.4	12.7	7.3	18.1	32.3	56	92.3

**Cuadro 3.** Porcentajes de control diario y global en *Haematobia irritans* contabilizadas sobre animales tratados con la combinación Fluazuron 3.0 g + Abamectina 0.5 g cbp 100 ml aplicada a una dosis de 10 ml/100 kg de P.V., Rancho "Santa Mónica" Lealtad de Muñoz, Playa Vicente, Veracruz

Dias Pt	% E
+ 3	100
+ 7	100
+ 10	100
+ 14	100
+ 17	100
+ 21	100
+ 24	100
+ 28	97.71
+ 31	82.66
+ 35	87.25
+ 38	91.59
+ 42	82.44
+ 45	72.67
+ 49	43.66
+ 52	2.43
GLOBAL + 42	94.82
GLOBAL + 45	92.74
GLOBAL + 49	89.15
GLOBAL + 52	82.33



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Almazán G. C., Cantú C. C. Vega F. A., García V.Z., Kunz S., Medellín L.A. Horn fly (*Haematobia irritans*) resistance to Cypermethrin and Diazinon in the State of Tamaulipas, México: current situation. *Vet. Mex.*, 35 (3) 2004 pp 237-244.
- Arther G. Robert (1997) Management of horn fly resistance; Mobay Animal Health Shawnee, Kansas.
- Foil LD, Hogsette JA. 1994. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue Scientifique et Technique* 13: 1125-1158.
- A.A. Guglielmo, O.S. Anziani, A.J. Mangold, R.E. Giorgi, M.M. Volpogni and S.G. Flores; Seasonal variation of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) in a recently infested region of central Argentina, *Bulletin of Entomological Research* (1997) 87, 55-59
- Henderson, C.F. and Tilton, E.W. Tests with acaricides against brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 1955, 48: 157-161.
- Harris RL, Miller JA, Frazar ED. 1974. Horn flies and stable flies: feeding activity. *Annals of the Entomological Society of America* 67: 891-894.
- Kunz S.E., Murrell K.D., Lamber G., James L.F., Terrill C.E. Estimated losses of livestock to pests. In D. Pimental, ed. *CRC Handbook of Pest Management in Agriculture*, Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL 1991, pp. 69-98.
- Sheppard, C. D., Hinkle C.N. 1986. A procedure for evaluation of horn fly *Haematobia irritans* (L) Pyrethroid resistance by exposure to pyrethroid residues on glass. *J. Agric. Entomol* 3(1):100-102



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PREVALENCIA DE PULGAS EN CORDEROS CRIADOS EN EL TRÓPICO MEXICANO.

### PREVALENCE OF FLEAS IN LAMBS IN THE MEXICAN TROPIC.

Gallegos TLG<sup>1\*</sup>, Jiménez JJE, Hernández MLN, Hernández JC, Peralta TJA, Luna PC, Ojeda RNF

División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Km 25 Carr. Villahermosa-Teapa Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México.  
nojedar@hotmail.com

Palabras clave: *Ovinos, Pulgas, Sifonapterosis.*

#### Resumen

La sifonapterosis, es causada por la presencia de una o varias especies de pulgas de diferentes géneros, los cuales causan daños directos e indirectos al ser transmisores de otros agentes. Sin embargo, poco a nada se conoce de la presencia de pulgas en ovinos. El objetivo fue estimar la prevalencia de una infestación por pulgas en corderos de pelo criados bajo un sistema de pastoreo en el Trópico. Se realizó un estudio observacional prospectivo en ovinos de la zona Centro, Tabasco. Se incluyeron 70 corderos Pelibuey, Blackbelly y sus cruza, con pesos promedio de 10 kg y edades desde recién nacidos hasta los dos meses de edad. Los animales fueron inspeccionados individualmente, en un lugar con buena iluminación. Se colectaron muestras, las cuales fueron conservadas en alcohol al 70 % hasta su identificación en el laboratorio, para lo cual se utilizaron claves de identificación taxonómica. Se registraron como positivos los animales con al menos una pulga presente. Se calculó la prevalencia de corderos positivos a las pulgas. Los datos se analizaron por medio de una Chi cuadrada en una tabla de contingencia de 2 x 2. Se utilizó el programa SPSS versión 20. Se realizó la identificación taxonómica y se determinó que el género presente fue *Ctenocephalides felis felis*, el cual se ha reportado como parásito de perros, gatos y animales productivos como bovinos, caballos y aves; sin embargo, en la literatura no se mencionan a los ovinos como hospederos. Se obtuvo una prevalencia general del 59 % (41/70), lo cual es alto, considerando que se trataban de corderos menores de dos meses de edad. Adicionalmente se determinó que el sexo no tuvo efecto en la prevalencia ( $X^2=0.417$ ,  $gl=1$   $p=0.518$ ), aunque para las hembras la frecuencia fue mayor que en los machos, siendo de 62 % (23/37) vs 54 % (18/33) respectivamente. La presencia de la infestación por estos parásitos ocasionó la muerte de al menos cinco corderos. Se reporta por primera vez en México, la presencia de la infestación causada por *Ctenocephalides felis felis* en corderos de pelo criados del trópico. Es necesario continuar con más estudios que permitan conocer la prevalencia en otras explotaciones para proponer medidas de control y de prevención.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## HALLAZGO DE *Echidnophaga gallinacea* EN AVES DOMESTICAS (*Gallus gallus domesticus*) EN UNA GRANJA DE PRODUCCIÓN.

## FINDING OF *Echidnophaga gallinacea* IN DOMESTIC BIRDS (*Gallus gallus domesticus*) IN A FARM OF PRODUCTION

Muñoz GMB<sup>1</sup>\*, Gutiérrez ME<sup>1</sup>, Valencia HL<sup>1</sup>, Galindo V E<sup>1</sup>, Pineda LJ<sup>1</sup>, Figueroa CD<sup>1</sup>, Chan CW<sup>2</sup>

Universidad de Colima: <sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Kilómetro 40. Autopista Colima-Manzanillo, Crucero Estación.

Tecomán, Colima, C.P. 28000, México.

evelasco@ucol.mx, mmunoz4@ucol.mx, egutierrez6@ucol.mx

Palabras clave: pulgas, aves, mamíferos.

### Resumen

Las pulgas de las aves pertenecen a los artrópodos, clase: Insecta, Orden: Siphonaptera, Familia: *Pulicidae*, Género: *Echidnophaga*, Especies: *E. gallinacea* conocida como pulga resistente o pulga pegajosa. Se encuentra en una amplia variedad de hospedadores como; gallináceas, perros y otros mamíferos como el humano. Misma que la relacionan con parasitemias de climas cálidos y subtropicales. El objetivo del presente trabajo es dar a conocer un hallazgo de ectoparásitos en aves domésticas de una granja ubicada en el km 13.5m de la carretera libre Colima-Cuauhtémoc, del estado de Colima. El área esta georeferenciada con las coordenadas "19.322550-103.616946". El lote total de muestreo fue de 50 gallinas de la línea *Brahma*, de las cuales el 100% presentaron pulgas, con una infestación menor de 15 hasta 350, con una media de infestación por animal de 160 pulgas que se localizaban en el área de la cara al rededor del ojo, barbillas y cuello. También se observó en otros mamíferos como perros que se encontraban colindando con las jaulas de las aves y en éstos se localizaron igual en el ojo, área del abdomen y axilas. La medida de Control consistió en una aplicación de ultracíc más agua con Tween 80 como vehículo a las concentraciones: 100, 75, 50, 25 y 12%, en spray) para ellos se diseñó un pequeño experimento distribuido completamente al azar con 24 gallinas 6 tratamientos y 4 repeticiones incluyendo el testigo, se tomaron registros previos y después desde el día 0, 1, 2, 3, 4, hasta el 5 día. El análisis de varianza mostro diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0.05\%$ ) separando a los tratamientos 12% y 100% del producto ultracíc. Se midió el porcentaje de efectividad mediante la fórmula de Abbott, donde se observó la reducción de la población de *Echidnophaga* desde un 46.6 hasta un 75%. Se concluye que el producto ultracíc, reducen la población de pulgas en un 75% y no se detectó daño alguno a la piel de las aves.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SECCIÓN IV: OTRAS PARASITOSIS

### PREVALENCIA DE PARÁSITOS EN GATOS FERALES EN LA CIUDAD DE MÉXICO

#### PREVALENCE OF PARASITES IN FERAL CATS IN MEXICO CITY

Arellano JOD<sup>1</sup>, Iturbe CTL<sup>1</sup>, Salmerón SF<sup>2</sup>, Figueroa CJA\*<sup>3</sup>

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000. Ciudad Universitaria. Coyoacán. CP 04510. CdMX.

<sup>1</sup>Depto. de Medicina, Cirugía y Zootecnia de Pequeñas Especies. <sup>2</sup>Depto. de Genética y Bioestadística. <sup>3</sup>Departamento de Parasitología. ficajuan@unam.mx

Palabras clave: Parásitos, Gatos ferales, Prevalencia

#### Resumen

Los programas de captura-esterilización y liberación (TNR por sus siglas en inglés), son una opción para el control poblacional de gatos ferales en las ciudades, y brindan una buena oportunidad para hacer un manejo seguro de estos animales. Con el objetivo de determinar la frecuencia de parásitos en gatos ferales sometidos a TNR que se llevaron a cabo en nueve alcaldías de la Ciudad de México: Álvaro Obregón, Azcapotzalco, Benito Juárez, Coyoacán, Cuauhtémoc, Iztapalapa, Tláhuac, Tlalpan y Venustiano Carranza. Mientras los gatos se recuperaban de la anestesia, se colectaron muestras (sangre, heces, improntas de la región perianal, cepillado de pelo y cerumen de los oídos). De la sangre se obtuvo el suero y se determinó la presencia de anticuerpos (IgG) mediante ensayo inmunoenzimático. Las muestras de heces se analizaron en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Parasitología de la FMVZ-UNAM, mediante examen macroscópico en busca de proglotis o parásitos adultos y la técnica de Flotación para la detección de ooquistes de protozoarios y huevos de helmintos. La técnica de Graham se realizó para encontrar proglotis o huevos de *Dipylidium* y *Taenia*. Se capturaron 206 gatos (110 hembras y 96 machos), el 90.7% presentaron buena condición corporal (3/5) y salud. Sólo de 200 gatos se obtuvo suero y de 88 se obtuvieron muestras de heces y Graham. La seroprevalencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* fue de 27.5%. El 58% de los gatos tuvieron algún endoparásito y el 70% algún ectoparásito. La frecuencia de *Dipylidium caninum* fue de 52%, *Toxocara cati* 35%, *Cystoisospora felis* 10.5%, *Taenia* 1.7%. En los 206 gatos examinados la frecuencia de *Ctenocephalides felis* fue de 70%, *Ctenocephalides canis* 2.4% y *Cheyletiella blakei* (0.48%). No se encontraron ácaros en los oídos. Las colonias de gatos sometidas a TNR no tenían propietario, pero si uno o varios cuidadores que los alimentan y ocasionalmente los vacunan, desparasitan o esterilizan, lo que podría explicar el buen estado de salud y condición corporal a pesar de haberse encontrado una alta prevalencia de parásitos, la mayoría de ellos con potencial zoonótico.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ANÁLISIS PRELIMINAR DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN AVES EN CAUTIVERIO EN UMA “EL APOMITO” EN CULIACÁN, SINALOA

### PRELIMINARY ANALYSIS OF GASTROINTESTINAL PARASITES IN BIRDS IN CAPTIVITY IN UMA “EL APOMITO” CULIACAN, SINALOA

Castro del CN<sup>1\*</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>, Tirado RAA<sup>1</sup>, Ibáñez GLR<sup>1</sup>, Solis CJD<sup>1</sup>, Borbolla IJE<sup>1</sup>, Barraza TCL<sup>1</sup>, Portillo LJJ<sup>1</sup>, Quintero OI<sup>1</sup>, Campos MCM<sup>1</sup>, Castro del CN<sup>2</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, <sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo  
ncaastro@uas.edu.mx

Palabras Clave: Aves, cautiverio, gastrointestinales

#### Introducción

De las alrededor de 10,500 especies de aves que hay en el mundo, entre 1,123 y 1,150 aves que es cerca del 11% del total mundial, habitan en México (Navarro *et al.*, 2014), lo que coloca a nuestro país en cuanto a número de especies en el octavo lugar a nivel mundial (CONABIO, 2019). Del total de especies registradas en el país entre el 18 y 20% (194 y 212 especies) son endémicas y se concentran a lo largo del oeste de México, principalmente en las zonas montañas del Eje Neovolcánico, las Sierras Madre Occidental y del Sur, y la planicie costera del Pacífico (Navarro *et al.*, 2014). Estas especies están expuestas a numerosas patologías dentro de las cuales destacan las enfermedades parasitarias (Figueiroa *et al.*, 2002; Caribé *et al.*, 2015) que provocan en sus hospedadores graves afecciones que impactan en la salud manifestándose en diarreas, deshidratación, emaciación, pérdida de colores vistosos y exhibición de plumajes de mala calidad (Guadarrama y Blasio, 1999) así como pérdida de peso, afectación en la reproducción con disminución en fertilidad y puesta de huevos lo que conlleva a pérdidas económicas mediante la reducción de la productividad que impacta de forma negativa la tasa de crecimiento y eventualmente causa la muerte o bien presentarse de manera asintomática (Luka y Ndams, 2007; Guadarrama y Blasio, 1999). De acuerdo a diversos autores algunas de las principales parasitosis gastrointestinales presentes en aves silvestres son *Trichuris*, *Heterakis*, *Capillaria*, *Ascaridia*, *Giardia* y *Eimeria* (Barrera *et al.*, 2015; Caribé *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2012) las cuales en condiciones de cautiverio pueden exacerbar condiciones negativas a la salud. En la actualidad las Unidades para la conservación, Manejo y Aprovechamiento Sustentable de la Vida Silvestre permiten a través de criaderos intensivos o extensivos de fauna silvestre dar seguimiento y hábitat a poblaciones y ejemplares que allí se encuentran conservando la biodiversidad (SEMARNAT, 2009) y en estas las especies con mayor frecuencia de manejo suelen ser las aves.

#### Objetivo

El objetivo del presente estudio fue identificar parásitos gastrointestinales en aves del Orden Galliforme y Psittaciformes en cautiverio.

#### Materiales y métodos

El estudio se realizó en la Unidad de Manejo Ambiental (UMA) “El Apomito” localizada en El ejido Lo de Bartolo perteneciente al municipio de Culiacán, en el Estado de Sinaloa con coordenadas: 24°42'19.7"N 107°09'20.6"W. Que se caracteriza por presentar un clima de tipo cálido-seco, con vegetación presente en el área de estudio perteneciente al tipo de Selva Baja Caducifolia.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

En esta investigación se realizó un estudio analítico descriptivo con muestreo aleatorio simple; se incluyeron 106 aves pertenecientes a los Órdenes Galliformes y Psittaciformes (cuadro 1). Se realizaron pool de heces obteniendo 37 muestras para su análisis.

Cuadro 1. Especies y cantidad de aves analizadas

Orden	Familia	Especie	Nombre común	Cantidad
Galliformes	Cracidae	<i>Ortalis poliocephala</i>	Chachalaca pacífica	4
Galliformes	Phasianidae	<i>Numida meleagris</i>	Gallina de guinea	4
Galliformes	Phasianidae	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Gallina/ Gallo doméstico	78
Galliformes	Phasianidae	<i>Meleagris gallopavo</i>	Guajolote	2
Galliformes	Phasianidae	<i>Pavo cristatus</i>	Pavo real común	9
Psittaciformes	Cacatuidae	<i>Cacatua alba</i>	Cacatúa blanca	1
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Ara macao</i>	Guacamaya roja	1
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Ara militaris</i>	Guacamaya verde	7

Para la toma de muestra el excremento se recolectó directamente del suelo y se seleccionó el más fresco; si la cantidad de heces era mínima a la que se requería se posponía la recolección completa en la jaula donde se presentara el caso y se proseguía con las restantes jaulas, una vez terminada la toma de muestra de estas, se retomaba la jaula pendiente para recolectar más excremento, esto para darle tiempo al ave que defecara debido al estrés que le causaría la presencia de un individuo ajeno a su jaula, colectando como cantidad mínima por ave 2 gr de heces; y al momento de tomar las muestras sólo se consideró la parte media para evitar aquella que estuviera en contacto directo con el suelo o con la superficie. Posteriormente se colocaron en bolsas plásticas individuales y se identificaron por especie y número de jaula. Éstas se colocaron en hielera con refrigerantes para su conservación y se remitieron al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Autónoma de Sinaloa para su procesamiento, en un tiempo no mayor a 24 horas.

Para el diagnóstico de las formas parasitarias se realizó la técnica coprológica de flotación de Faust (Zajac y Conboy, 2011) utilizando microscopio óptico con los objetivos de 10x y 40x, para la observación y detección. El porcentaje de infección que se calculó con la siguiente fórmula:  $PI = N+ / NT * 100$ , donde  $PI$ = porcentaje de infección,  $N+$ = número de pruebas positivas de PGI,  $NT$ = número de individuos por especie.

### Resultados y discusión

Los resultados obtenidos mostraron que del total de muestras analizadas 75,68% (28/37) fueron positivas a parásitos gastrointestinales, donde la mayor frecuencia se observó en *Heterakis* spp con el 56,76%, seguida de *Capillaria* spp 35,14%, *Eimeria* spp 21,62% y la menor frecuencia fue observada en *Ascaridia* spp con el 16,22% (Cuadro 2). Los principales signos clínicos observados en las diferentes especies de aves de los Ordenes Galliformes y Psittaciformes fueron: bajo peso, deshidratación y diarrea. De las muestras positivas, 46,4% se observaron con un parásito (monoparasitosis), presentando *Capillaria* spp o *Heterakis* spp; la cantidad de individuos infestados con dos parásitos se mostró más baja con 42,8 % (biparasitismo) donde cohabitaban *Eimeria* spp - *Capillaria* spp, *Capillaria* spp-*Heterakis* spp, *Heterakis* spp-*Ascaridia* spp, *Heterakis* spp-*Eimeria* spp y *Eimeria* spp-*Ascaridia* spp; se observó que la cantidad de individuos infestados con tres



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

parásitos o más fue menos frecuente con 10.7 % (Multiparasitosis) encontrándose *Heterakis* spp–*Eimeria* spp–*Capillaria* spp, *Heterakis* spp–*Eimeria* spp–*Ascaridia* spp, *Capillaria* spp–*Heterakis* spp–*Eimeria* spp–*Ascaridia* spp.

Cuadro 2. Frecuencia de parásitos gastrointestinales presentes en aves silvestres en cautiverio.

Jaula	Muestra	RESULTADOS				
		<i>Ascaridia</i> spp	<i>Capillaria</i> spp	<i>Eimeria</i> spp	<i>Heterakis</i> spp	Negativo
1	1		1	1		
	2					1
	3					1
2	4		1			
	5					1
3	6					1
	7					1
5	8	1			1	
	9				1	
	10	1			1	
	11	1			1	
	12			1	1	
6	13	1		1		
	14				1	
	15				1	
	16				1	
	17			1	1	
7	18		1		1	
	19		1			
	20		1	1	1	
	21		1			
	22		1		1	
8	23					1
	24			1	1	
	25				1	
	26					1
	27	1		1	1	
9	28				1	
	29				1	
	30				1	1
	31	1	1	1	1	
	32		1		1	
10	33					1
	34		1			
	35		1			
	36		1			
	37		1		1	
<b>Total</b>		<b>6</b>	<b>13</b>	<b>8</b>	<b>21</b>	<b>9</b>

Los reportes a nivel nacional e internacional acerca de las parasitosis gastrointestinales de aves silvestres demuestran la presencia de una gran diversidad parasitaria, donde los helmintos en especial nematodos y protozoarios como los coccidios son recurrentes en estas especies animales (Batista *et al.*, 2011, Barrera *et al.*, 2015; Caribé *et al.*, 2016). Resultados cercanos a los del presente



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

estudio son reportados por Pólo *et al.* (2007) en su estudio realizado en el parque Zoológico Nacional de Cuba, al observar un 64,75% de aves parasitadas, así mismo el 58% de la población de psitácidos en la Fundación Zoológica de Cali en Colombia (Santacruz *et al.*, 2003) 46,7% en aves silvestres en cautiverio del estado de Pernambuco, Brasil (Figueiroa *et al.*, 2002) y en aves del Zoológico de Culiacán el 34,7% resultó positivo al menos a un parásito gastrointestinal (Castro *et al.*, 2012), estos resultados aunque cercanos muestran porcentajes menores a los observados a los de esta investigación y puede atribuirse a las condiciones ambientales en las que se desarrolló este trabajo, en la época analizada la humedad y temperatura comienzan a incrementarse notablemente, en general la temperatura máxima promedio es más de 34 °C, estas condiciones son muy propicias para el desarrollo de las parasitosis. Los helmintos como *Heterakis spp* es uno de los nematodos que se reportan con frecuencia, como lo observado por Figueiroa *et al.* (2002) con 3,2%, Pólo *et al.* (2007) 9,88% y Castro *et al.* (2012) 10.6%, si bien la infección causada por *Heterakis spp* se considera medianamente patógena su importancia radica en que juega un importante rol como portador de *Histomonas meleagridis*. Dentro de este mismo Phylum, *Capillaria spp* se observó en este estudio como el segundo parásito de mayor frecuencia, y concuerda con Caribé *et al.* (2016) al encontrar en este mismo sitio al nematodo con 31,25% en aves psitácidas del género ara y amazona de la región metropolitana de Salvador y a lo observado en predios del Noroccidente de Colombia en aves domésticas con 25,6% (Marín *et al.*, 2007) y fue menor a lo que reportan en aves silvestres de un ecosistema urbano ribereño con 2,4% posiblemente al hecho de no permanecer en áreas confinadas (Pérez *et al.*, 2018). La coccidiosis aviar es la enfermedad causada por diferentes especies de *Eimeria* cada una con niveles de patogenicidad diferentes, en este estudio el protozoario se identificó en 21,66% de las muestras analizadas semejante al 24% encontrado en aves silvestres y exóticas mantenidas en establecimientos privados en Brasil (Batista *et al.*, 2011) y difiere de lo que reportan Pólo *et al.* (2007) y Pérez *et al.* (2018) con 58,91% y 97,6% respectivamente, si bien los valores de la presente investigación son inferiores a éstos, debe darse especial atención, por los daños que genera a nivel intestinal alterando la absorción de nutrientes, diarreas e impacto en la producción. Por otra parte, *Ascaridia spp* se observó con el menor porcentaje, en estudios como el realizado en aves de la familia *Psittacidae* observaron un 13% en específico en las especies *Ara severa*, *Ara macao*, *Ara chloroptera*, *Ara ambigua* y *Amazona festiva* (Santacruz *et al.*, 2003) por el contrario los estudios realizados por Pólo *et al.* (2007) y Pérez *et al.* (2018) se encontró una prevalencia del 7,17 y 2,4% respectivamente y menor comparada a lo encontrado en esta investigación que fue del 16,22%. Algunos de los signos presentes en las aves fueron la deshidratación y diarrea, y se atribuyen a los parásitos identificados en las aves, así lo confirman diversos autores que indican que la presencia de helmintos, protozoarios y artrópodos están relacionados con sus acciones patógenas (Santacruz *et al.*, 2003, Barrera *et al.*, 2015, Pérez *et al.*, 2018) y puede estar relacionados a la vez a las condiciones ambientales y de higiene a las que están expuestos los animales.

### Conclusión

Se determinó una elevada presencia de parásitos gastrointestinales en aves de los Ordenes Galliformes y Psittaciformes (75,68%), predominando el nematodo *Heterakis spp*. Debido a la pérdida de hábitats para las aves silvestres es importante que las UMAS, parques ecológicos o reservas establezcan medidas de prevención y control parasitario, para contribuir a preservar la vida de estos ejemplares.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

### Referencias bibliográficas

- Barrera JA, Varela N, Robledo E. (2015). Prevalencia De Parásitos Gastrointestinales En Psitácidas Atendidas En El Zoológico Matecaña De La Ciudad De Pereira Entre Abril Y Diciembre Del Año 2014. Memorias de la Conferencia Internacional en Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre, Exótica y no Convencional, Vol. 11; N°2, 18-31.
- Batista CM, De Calais JA, Freire MIV (2011). Avaliação Coproparasitológica E Clínica De Aves Silvestres E Exóticas Mantidas Em Criatórios Particulares No Município De Alegre-Es. Ciência Animal Brasileira, Vol. 12; N°3, 525-529.
- Caribé AMC, Rossi PMS, Borges DSW, Malta GD, Coutinho NO, Bonfim BK, De Moraes NMA, Ornelas DMA. (2016). Ocorrência de parasitos gastrintestinais em Psitacídeos, mantidos em Parques Ecológicos na região metropolitana de Salvador, Bahia. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Vol. 38; No. 2, 133-136.
- Castro del CN, López AC, Pérez DLB, Barraza TCL, Gaxiola CSM, Enríquez VI, Solís CJD, Ibáñez GLR, Cota GS. 2012. Parásitos gastrointestinales en aves silvestres del zoológico de Culiacán, Sinaloa. IX Congreso Universitario De Ciencias Veterinarias. 20-22 de septiembre, Puerto Vallarta, Jalisco.
- Figueiroa LDM, Bianque DJ, Dowell DCM, Soares LA, Santiago MV, Alves DR, & Evencio SA (2002). Parásitos gastrointestinales de aves silvestres en cautiverio en el estado de Pernambuco, Brasil. Parasitología latinoamericana, Vol. 57, No.1-2.
- García CDJ, Sánchez POJ, Pulido MMO, Andrade BRJ. (2013). Identificación De Parásitos Gastrointestinales En Aves Silvestres En Cautiverio. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXIII; N° 3, 254-258.
- Parra HG, Alarcón PEP, López VG, Ramírez MDM, Jaramillo CGE. (2011). Detection of ectoparasites in wild birds evaluated in Medellin (Colombia). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol. 24; No. 1, 29-37.
- Pérez GG, Jiménez RAE & Bermúdez RT. (2018). Parásitos gastrointestinales de aves silvestres en un ecosistema ribereño urbano tropical en Heredia, Costa Rica. Revista de Biología Tropical, Vol. 66; No. 2, 788-798.
- Pólo LJL, MacKensie PM & Porras SJA. (2007). Prevalencia de Parásitos Gastrointestinales en las Aves de los Ordenes Galliformes y Columbiformes Mantenedas en el Parque Zoológico Nacional de Cuba. Revista electrónica de Veterinaria (REDVET), Vol. VIII; No. 12.
- Santacruz BP, Orjuela AD, Benavides MJ, Martines K. (2003). Parásitos gastrointestinales en las aves de la familia Psittacidae en la Fundación Zoológica de Cali (Cali, Valle del Cauca, Colombia). Medicina Veterinaria, Vol. 20; No. 6, 67-72.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## DETERMINACIÓN DE *Mycoplasma haemocanis* EN SANGRE DE CANINOS DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO

## DETERMINATION OF *Mycoplasma haemocanis* IN CANINE BLOOD FROM CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO

Corona SNC<sup>\*1</sup>, Gaxiola CSM<sup>1</sup>, Tinoco GL<sup>2</sup>, Castro del CN<sup>1</sup>, Rubio RMC<sup>1</sup>, Barraza TCL<sup>1</sup>, Villalba RYE<sup>1</sup>, Gaxiola MJ<sup>1</sup>, López ACV<sup>1</sup>, Enríquez VI<sup>1</sup>

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa<sup>1</sup>; Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California<sup>2</sup>.  
enver@uas.edu.mx

Palabras claves: *Mycoplasma haemocanis*, *Haemobartonella*, Micoplasmas hemotrópicos, perros, Hemoplasmas, PCR.

### Introducción

*Mycoplasma haemocanis* es el agente etiológico de la micoplasmosis hemotrópica en los perros (Kemming *et al.*, 2004). Los micoplasmas hemotrópicos son bacterias pequeñas, pleomórficas y sin pared celular, detectadas en la sangre de mamíferos (Soto *et al.*, 2017). Dependen estrictamente de las células del hospedador, pueden llegar a infectar a diversas especies de animales (Leite *et al.*, 2016). En perros se describen dos especies: *Mycoplasma haemocanis* (*Mhc*) y *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* (*CMhp*) (Soto *et al.*, 2017). Los signos clínicos incluyen anemia, fiebre, infertilidad, letargia, artritis, problemas respiratorios y disminución de peso (Leite *et al.*, 2016). Las infecciones por micoplasmas hemotrópicos usualmente son de tendencia crónica y oculta (Maggi *et al.*, 2013). Al respecto, se ha observado la expresión clínica de micoplasmosis en perros infectados con *Ehrlichia*, *Babesia*, y *Anaplasma* (Beaufils, 2012). Sin embargo, los signos clínicos varían desde las infecciones asintomáticas hasta la inducción de un síndrome hemolítico grave, especialmente en perros esplenectomizados o inmunocomprometidos (Sharifiyazdi *et al.*, 2016). No se conoce con exactitud la transmisión natural al perro (Soto *et al.*, 2017); sin embargo, se puede reproducir principalmente por artrópodos hematófagos (Messick, 2003). Estudios realizados en China respaldan un mayor riesgo de infección por micoplasmas hemotrópicos entre los agricultores, veterinarios y otras personas con contacto frecuente y cercano a animales domésticos y artrópodos hematófagos (Maggi *et al.*, 2013), sugirieron el potencial infeccioso de los micoplasmas hemotrópicos no ha sido definido claramente como causa de la enfermedad en humanos, pero al ser un patógeno zoonótico emergente puede plantear un problema de salud pública. La bacteria ha sido descrita en el mundo por la técnica de frotis (Nezhad *et al.*, 2014) y PCR en muestras de sangre de perros (Leite *et al.*, 2016), quien tiene una ocurrencia que oscilan entre el 1.2% y 44.7% (Soto *et al.*, 2017), en diversos estudios utilizaron como diagnóstico el PCR reportando: Turquía con el 38.3% en el 2017 y el 12.3% en el 2018 (Aktas y Ozubek, 2017; 2018), en Catar con el 7.8% (Alho *et al.*, 2017), en Rumania con el 17.7% (Andersson *et al.*, 2017) y en Morelos con el 66.6% (Lira-Amaya *et al.*, 2015). Uno de los métodos utilizados para la identificación de *Mhc* es el PCR, recurrido en los estudios por su sensibilidad en la identificación de la bacteria (Nezhad *et al.*, 2014); utilizando para la detección de la especie *Mycoplasma haemocanis* mediante la amplificación de la porción variable del gen 16S rRNA (Aktas y Ozubek, 2018), así como también el gen 23S rRNA y GAPDH utilizado por Vieira *et*



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

*al.* (2015) o el RNaseP por Sousa *et al.* (2017), y el gen RPS19 manejado como control en el estudio de Soto *et al.* (2017) para la detección de *Mycoplasma spp.*

### Objetivo general

Determinar la presencia de *Mycoplasma haemocanis* en sangre de caninos de Culiacán, Sinaloa, México.

### Material y métodos

El presente trabajo se realizó en el municipio de Culiacán del estado de Sinaloa, localizada entre las coordenadas 24° 2' 4.92" y 25° 16' 33.6" latitud norte y entre 107° 49' 22.8" y 106° 52' 15.6" longitud oeste; altitud entre 2,100 m., con rango de temperatura de 18-26°C y rango de precipitación de 400-1100 mm., con clima seco muy cálido y cálido (37.40%), semiseco muy cálido y cálido (31.96%), cálido subhúmedo con lluvias en verano de humedad media (29.11%), cálido subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad (1.49%), y semicálido subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad (0.04%), (INEGI, 2019).

Tipo de estudio: Observacional, transversal por conveniencia (Manterola y Otzen, 2014).

Criterios de Inclusión: se consideraron a caninos atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Culiacán del estado de Sinaloa, así mismo se obtuvo información clínica y epidemiológica de los animales a muestrear como: signos clínicos, si estaban o no esplenectomizados, visitas médicas y presencia de ectoparásitos.

Colecta de muestras: El muestreo se realizó durante el año 2018, entre los meses de junio y noviembre, en 6 clínicas veterinarias particulares, en el Hospital de pequeñas especies y del Laboratorio de la FMVZ. Obteniendo 59 muestras sanguíneas que se procesaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

Toma de muestras: La sangre se obtuvo mediante punción de la vena cefálica de la extremidad anterior o de la vena safena de la extremidad posterior y/o de la yugular, se depositaron en tubos Vacutainer® con EDTA, previamente identificados, las cuales se conservaron a 4°C, hasta su procesamiento en el Laboratorio de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UAS.

Análisis de las muestras: Se realizaron dos extensiones sanguíneas de cada muestra, se tiñeron con tinción de Wright y hemocolorante rápido, posteriormente se observaron por técnica de microscopia (Carl Zeiss - AXIOSTAR) óptica x100.

Extracción de ADN: Se extrajo el ADN de la sangre de los caninos muestreados, por medio de la técnica fenol-cloroformo (Sambrook *et al.*, 2012), utilizando 300 µl de sangre completa de caninos, colocando cada muestra en tubos Eppendorf de 1.5 ml; a los cuales se les agregó amortiguador de lisis (TE: tris 100mM y EDTA 10mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubaron a 37°C con calor seco y a 56°C a calor húmedo por una hora respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugaron por dos min a 12,000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1),



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

se centrifugaron por dos min a 12,000 RPM se obtuvo el sobrenadante y se agregó 1 ml de etanol, se refrigeraron a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 2 h (20 min a  $-80^{\circ}\text{C}$ ). Se centrifugaron por 20 min, a 12,000 RPM y se decantó el sobrenadante. A la pastilla obtenida se le agregó 50  $\mu\text{l}$  de agua inyectable estéril), de esta solución se tomó 5  $\mu\text{l}$  y se homogenizó con 2  $\mu\text{l}$  de azul de Bromo fenol para detectar la presencia de ADN, en un gel de agarosa al 1% teñido con gel red revelado en cámara de electroforesis a 80 voltios, 250 mA durante 30 min y se observó con luz ultravioleta (Huang, 2010).

PCR: La amplificación del ADN obtenido se realizó por PCR anidado a 7 de las muestras en un termociclador (BIO-RAD Icyler), con una mezcla de reacción a un volumen de 25  $\mu\text{l}$  que contenía la enzima Polimerasa Go Taq Green Master Mix, 2X (PROMEGA) 50 pM de cada oligonucleótido y aproximadamente 100 ng de ADN genómico. Se procederá a la detección de la especie *Mhc* mediante la amplificación de la porción variable del gen 16S rRNA (309pb) se utilizó un conjunto de oligonucleótidos, sentido (5'-GAAACTAAGGCCATAAATGACGC-3') y anti-sentido (5'-ACCTGTCACCTCGATAACCTCTAC-3') (Aktas y Ozubek, 2018); bajo las condiciones de ciclado a:  $94^{\circ}\text{C}$  durante 5 min, seguidos por 32 ciclos a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 1 min, hibridación a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 1 min y extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 1 min, con un paso de extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 5 min (Torkan et al., 2012).

Visualización de gen amplificado: Los productos de amplificación de ADN fueron validados por visualización de bandas de 309pb mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2%, teñido con SafeView™ Classic (Applied Biological Materials Inc.), en cada corrida electroforética se incluyó 10  $\mu\text{L}$  del producto de PCR de cada muestra y un marcador de tamaño de 100 pb. Los geles se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta (UV) a 340 nm, para evidenciar las bandas de ADN compatibles en tamaño con el fragmento de los genes en estudio.

### Resultados y discusión

De las 53 muestras de frotis sanguíneo, 13 (24.5%) fueron positivas a *Mycoplasma* spp. y 39 muestras negativas (73.5%). La bacteria coincide a lo observado en el diagnóstico por frotis sanguíneo del caso clínico de un perro reportado por Beaufils (2012); Martínez et al. (2003) determino *Mycoplasma* spp. por frotis sanguíneo en muestras de perros el 12.57% (23/252), siendo una técnica complementaria en otros estudios como: la ciudad de México (Osorno y Miodrag, 1973), Cuautla (Lira-Amaya et al., 2015), India (Abrani et al., 2011); el diagnóstico por medio de extensiones sanguíneas se debe realizar el frotis inmediatamente después de la toma de muestra, ya que la ausencia en el frotis no lo excluye del diagnóstico, nombrándolo como un falso negativo (Villiers y Blackwood, 2005). De las 59 muestras de ADN de sangre, se realizó PCR anidado a 7 muestras positivas por frotis sanguíneo. Tres (11.8%) de las muestras amplificaron alrededor de 300 pb (figura 1), las muestras analizadas en este estudio con los oligos utilizados por Aktas et al., (2018), dan una aproximación al peso molecular referente del estudio el cual es de 309pb, con un resultado positivo del 4.5% a *Mhc* y en el 2017 con el 26.2% positivas a *Mhc* (Aktas et al., 2017), siendo estos oligos referentes al estudio de Torkan et al. (2012) con el 13% de muestras positivas a *Mhc*. El proceso de PCR es el más recurrido en los estudios por su sensibilidad, dando un resultado más confiable, mostrando una tasa de efectividad del 100%, aun si el perro no manifiesta signología de enfermedad (Nezhad et al., 2014). Las muestras que dieron positivas a *Mhc*, fueron obtenidas de perros machos, de raza y criollos, así como rescatados y con nula visita con el médico, los que presentaron a la toma de la muestra, mucosas pálidas, deshidratación, vómito, caquexia y presencia de ectoparásitos,





## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

signología mencionada por Leite *et al.* (2016), los perros machos son lo que han tenido mayor porcentaje en la detección de *Mycoplasma* spp., como se ha observado en estudios de Chile que fueron el 36.6% machos y hembras 8.7% positivos (Soto *et al.*, 2017), en Iran con 65.2% machos y hembras 34.7% positivos (Torkan *et al.*, 2012).

### Conclusión

Se determinó la presencia de *Mycoplasma haemocanis* en sangre de perros, hasta donde sabemos, siendo este el primer reporte en la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

### Referencias bibliográficas

- Aktas y Ozubek, 2018. A molecular survey of hemoplasmas in domestic dogs from Turkey. *Veterinary Microbiology* 221:94-97. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.06.004
- Aktas y Ozubek, 2017. Molecular survey of haemoplasmas in shelter dogs and associations with *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. *Medical and Veterinary Entomology* 31, 457-461. DOI: 10.1111/mve.12244
- Kemming G. I., Messick J. B., Enders G., Boros M., Lorenz B., Muenzing S., Kisch-Wedel H., Mueller W., Hahmann-Mueller A., Messmer K., Thein E. 2004. Mycoplasma haemocanis Infection – A kennel disease?. *American Association for Laboratory Animal Science* 54 (4):404-409. <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/cm/2004/00000054/00000004/art00008%3bjsessionid=1im6bfuqxecfc.x-ic-live-03>
- Leite S. R., Teles E. J., Pazzuti G., Kellerman C. H. P., Babo-Terra V. J., Friozi E., do Nascimento R. C. A. 2016. "Occurrence of Mycoplasma haemocanis in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil". *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 25(3):359-363. ISSN: 0103-846X DOI: 10.1590/S1984-29612016043
- Maggi R. G., Compton S. M., Trull C. L., Mascarelli P. E., Mozayeni R., Breitschwerdt. 2013. Infection with hemotropic Mycoplasma species in patients with or without extensive arthropod or animal Contact. *Journal of Clinical Microbiology* 51(10):3237–3241. DOI: 10.1128/JCM.01125-13
- Messick J.B., 2003. New perspectives about Hemotropic mycoplasma (formely, Haemobartonella and Eperythrozoon species) infections in dogs and cats. *Vet Clin North Small Animal Practice* 33(6):1453-1465. DOI: 10.1016/S0195-5616(03)00122-0
- Nezhad R. M., Vahedi S. M., Mohammadkhan F., 2014. Haemotropic mycoplasmas (haemoplasmas): a review. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2(5):1484-1503. [https://pdfs.semanticscholar.org/f6f5/8ac5d98b3b2a32d6ed171baf171347352218.pdf?\\_ga=2.210203671.365033637.1551158477-914273990.1551158477](https://pdfs.semanticscholar.org/f6f5/8ac5d98b3b2a32d6ed171baf171347352218.pdf?_ga=2.210203671.365033637.1551158477-914273990.1551158477)
- Sharifiyazdi H., Abbaszadeh M., Radmanesh M. 2016. Development of RFLP-PCR and simple multiplex PCR assays for detection and differentiation of two species of hemotropic Mycoplasmas in naturally infected dogs. *Comparative Clinical Pathology* 25(4):847-853. ISSN: 1618-565X; DOI: 10.1007/s00580-016-2272-7
- Soto F., Walker R., Sepulveda M., Bittencourt P., Acosta-Jamett G., Müller A. 2017. Occurrence of canine hemotropic Mycoplasmas in domestic dogs from urban and rural areas of the Valdivia Province, southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 50:70–77. DOI: 10.1016/j.cimid.2016.11.013



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

Torkan S., Aldavood S.J., Sekhvatmandi A., Moshkelani S. 2012. Detection of haemotropic Mycoplasma (Haemobartonella) using multiplex PCR and its relationship with epidemiological factors in dogs. *Comparative Clinical Pathology* 23:669-672. ISSN: 1618-565X; DOI: 10.1007/s00580-012-1668-2

### FIGURAS

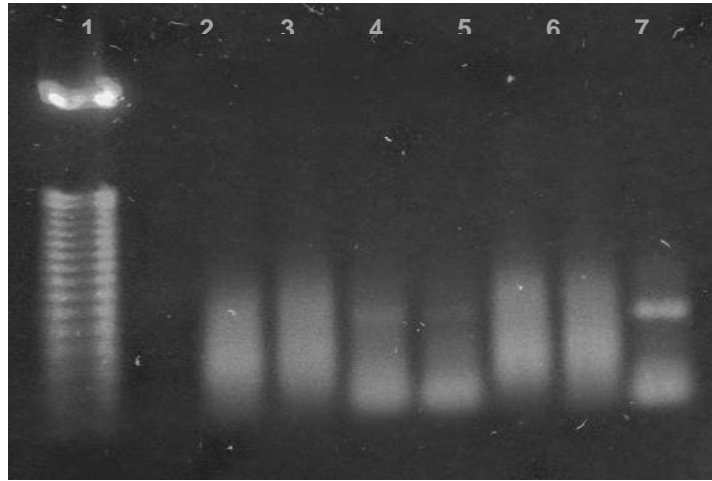


Figura 1. Gel de agarosa al 1%, teñido con SafeView™. Carril 1 marcadores de tamaño 100 a 1000 pb. Carriles 5, 6 y 9 Amplificación del gen 16S RNAr de *Mycoplasma haemocanis* de alrededor de 300 pb. Carriles 3, 4, 7, 8 negativos, carril 2 vacío.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## SEROPREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii*, EN REBAÑOS OVINOS DE JALISCO, MÉXICO

### SEROPREVALENCE OF *Toxoplasma gondii* INFECTION IN OVINE FLOCKS OF JALISCO, MEXICO

Cruz VC\*, De Velasco RI, Vázquez GM, Vitela MI, Medina EL

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, km 18 carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, El Llano, 20330, Aguascalientes, México.  
cruva18@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, ovinos, seroprevalencia.

#### Resumen

El objetivo del estudio fue identificar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en ganado ovino de tres municipios de la región de los altos norte de Jalisco, México. Se incluyeron doce granjas distribuidas en el área de estudio; todas mantenían al ganado en confinamiento y contaban con animales de razas de pelo. Se recolectaron 336 muestras de suero, 324 correspondientes a ovejas (>12 meses de edad) y 12 a carneros. Las muestras se sometieron a la prueba de ELISA indirecta, para determinar la presencia de IgG específica a *T. gondii*, utilizando un paquete comercial. Las muestras de suero y los controles se analizaron pareados a la dilución 1:400. La seroprevalencia global en la población estudiada fue 17.8% (60/336; IC 95% 14-22), todas las granjas tuvieron animales positivos, mientras que la seroprevalencia varió entre 7 y 28.5%. La seroprevalencia en los municipios fue 19% en Lagos de Moreno, 18% en Encarnación de Díaz, y 17% en San Juan de los Lagos. La seroprevalencia en ovejas fue de 17.5% (57/324; IC 95% 13-22) y en carneros de 25% (3/12; IC 95% 6-57), mientras que entre las razas fue de 17.8% en Pelibuey (20/112; IC 95% 11-26), 16.6% en Kathadin (14/84; IC 95% 9-26), 15.4% en Blackbelly (13/84; IC 95% 8-25) y 23.2% en Dorper (13/56; IC 95% 13-36), no se observaron diferencias entre razas ( $p < 0.05$ ). La seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en ovinos de México varía entre 15 y 84% observándose diferencias notables entre regiones y sistemas de producción; en el centro-norte del país, la seroprevalencia reportada fue de 15%, similar a la observada en nuestro estudio. Se concluye que la infección por *T. gondii* se encuentra presente en la región bajo estudio, recomendándose desarrollar estudios para asociarla con diferentes factores de riesgo.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN DE *Contraecaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) EN PELÍCANOS PARDOS (*Pelecanus occidentalis californicus*): REPORTE DE UN CASO CLÍNICO REMITIDO AL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO

## IDENTIFICATION OF *Contraecaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) IN BROWN PELICAN (*Pelecanus occidentalis californicus*): REPORT OF A CLINICAL CASE FORWARDED TO THE LABORATORY OF PARASITIC DIAGNOSIS

Martínez A\*<sup>1</sup>, Romero CE<sup>1</sup>, Figueroa CJ<sup>1</sup>, Padilla AP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico Parasitológico, Departamento de Parasitología, FMVZ-UNAM, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, CDMX.  
mvz\_patypadilla@yahoo.com

Palabras clave: Pelicano, *Contraecaecum multipapillatum*, Nematodo.

### Resumen

Las enfermedades parasitarias son las más frecuentes en las aves acuáticas y varían de infecciones subclínicas hasta el extremo de provocar la muerte; además, estas infecciones pueden interferir con su comportamiento y desempeño reproductivo. En noviembre del 2018 se remitieron al Laboratorio de Diagnóstico de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) tres frascos con nematodos de la familia Anisakidae conservados en alcohol al 70% que provenían de tres pelicanos pardos (*Pelecanus occidentalis californicus*) de Mazatlán, Sinaloa. Para la determinación taxonómica, los nematodos fueron aclarados en lactofenol de Amman y se identificaron utilizando literatura especializada (Yamaguti, 1961; Anderson et al. 1974). Se obtuvo un total de 30 nematodos (23 hembras y 7 machos), se identificó un taxón: *Contraecaecum multipapillatum*, el cual se caracteriza por la presencia de un cuerpo robusto, dotado de una cutícula con estriaciones transversales muy marcadas en el extremo anterior del cuerpo, después de los labios, conformando el collar que delimita el cuello del cuerpo. Posee 3 labios, uno dorsal con una doble papila y dos ventro-laterales con ligera depresión en el margen superior, cada uno con una papila doble. Tres interlabios bien desarrollados con punta redondeada y no bifurcada. Poro excretor en la base de los labios. Esófago muscular y un ventrículo glandular de forma globular. Ciegos esofágico e intestinal presentes; y tres glándulas rectales. En la hembra se encontró la vulva ligeramente a un tercio posterior de la unión esófago-intestino. Estos parásitos se caracterizan por tener un ciclo biológico indirecto utilizando vertebrados e inveterados como huéspedes intermediarios, por ejemplo, los peces (alimento principal de los pelicanos), estos organismos también son fundamentales para la transmisión de ictiozoonosis. Este es el primer reporte de *Contraecaecum multipapillatum* que se realiza para Mazatlán, Sinaloa.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## ***Ehrlichia canis* EN PERROS DE YUCATÁN MÉXICO: PREVALENCIA, INCIDENCIA, CO- INFECCIÓN CON *Rickettsia parkeri* Y FACTORES ASOCIADOS**

## ***Ehrlichia canis* IN DOGS OF MEXICO: PREVALENCE, INCIDENCE, CO-INFECTION WITH *Rickettsia parkeri* AND FACTORS ASSOCIATED**

Ojeda CMM<sup>1</sup>, Rodríguez VRI<sup>1\*</sup>, Esteve GMD<sup>2</sup>, Pérez deLAA<sup>3</sup>, Modarelli JJ<sup>2</sup>, Villegas PSL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. rvivas@correo.uady.mx

<sup>2</sup>Department of Veterinary Pathobiology, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX-77843, USA

<sup>3</sup>USDA-ARS Knippling-Bushland U.S. Livestock Insects Research Laboratory and Veterinary Pest Genomics Center, College Station, Kerrville, TX 78028, USA  
rvivas@correo.uady.mx

Palabras clave. *Ehrlichia canis*, *Rickettsia parkeri*, co-infección.

### **Resumen**

La prevalencia e incidencia de *Ehrlichia canis*, así como la co-infección con *Rickettsia parkeri* y factores asociados fue investigada en perros de Yucatán, México. Se obtuvo la sangre de 246 perros de comunidades rurales de Yucatán, México que fueron inicialmente analizados por una qPCR de tiempo real para detectar patógenos pertenecientes a la familia Anaplasmataceae tales como *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Rickettsia rickettsii*. Sesenta y cinco perros fueron monitoreados y muestreados dos veces con un intervalo de 7-8 meses. La qPCR presentó 72 perros positivos a *E. canis* teniendo una prevalencia de 29.26%. Estos perros positivos fueron analizados a través de una PCR de punto final anidada para detectar los mismos patógenos. Ninguno de los perros de este estudio resultaron positivos a *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *A. phagocytophilum* usando la qPCR y PCR anidada. La incidencia acumulada de la infección de *E. canis* fue de 38.46%. El análisis de secuencia del producto de la PCR anidada mostró 100% y 98.1% de identidad con *E. canis* y *R. parkeri*, respectivamente. Se encontró un perro co-infectado con *E. canis* y *R. parkeri*. Se concluye que existe una alta prevalencia e incidencia de *E. canis* en perros de Yucatán donde se detectó que la edad (>3 años de edad) fue el único factor asociado con la infección de *E. canis* en perros. Este estudio presenta el primer reporte de una co-infección activa *R. parkeri* y *E. canis* en un perro doméstico en el estado de Yucatán, México.

La investigación fue financiada por los proyectos FMVZ-2016-0007, Texas AgriLife and TVMDL's seed grant, Molecular Diagnosis of Zoonotic Tick-Borne Diseases, USDA-ARS Project Nos. 3094-32000-039-00D y 3094-32000-036-00D.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ENDOPARÁSITOS DE LA BALLENA AZUL DE VIDA LIBRE EN EL SUROESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA

## MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF ENDOPARASITES OF FREE- RANGING BLUE WHALE IN THE SOUTHWEST GULF OF CALIFORNIA

Pacheco AMJ\*, Morales AJR, Leyva VI, Gómez GJ, Gendron LD

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, CICIMAR-IPN  
janetharmm@gmail.com

Palabras clave: Ballena azul, helmintos, protozoarios.

### Resumen

La migración de las ballenas puede influir en la riqueza de parásitos y sus niveles de infección (prevalencia, intensidad y densidad). Sin embargo, el conocimiento actual sobre las enfermedades y parásitos en poblaciones de cetáceos de vida libre es incipiente. El uso de técnicas no invasivas como el análisis de muestras de heces representa una alternativa para estudiar la condición de salud de las ballenas en sus hábitats naturales. El presente trabajo se enfoca en la identificación morfológica y molecular de endoparásitos recolectados de heces ( $n = 5$ ) de ballena azul. Morfológicamente se reconocieron helmintos adultos de *Bolbosoma turbinella* y *B. balaenae* (Acantocephala), *Ogmogaster antarctica* (Trematoda) y huevos de *Diphyllobotrium* sp. (Cestoda), *Ascaroidea* sp. (nematoda), helmintos no identificados y protozoarios *Entamoeba* spp., *Balantidium* sp. y *Giardia* gen. sp. Mediante 650 pb del gen COI ADNmt y 900 pb del 18S ADNr, se confirmó la identidad de *B. turbinella*, *B. balaenae* y *O. antártica*. A nivel de componente de comunidad, la riqueza de parásitos observada en heces fue de 2 a 6 especies y más del 50 % de los hospederos presentaron coinfección por helmintos y protozoarios. La infección de acantocéfalos presentó prevalencia de 40 a 60% y el intervalo de intensidad media fue de 3 a 4 parásitos/heces. Sin embargo, se observó mayor riqueza de protozoarios, de los cuales *Entamoeba* spp. y *Balantidium* sp. presentaron mayor prevalencia (80-100%) y densidad de 7950 a 8550 protozoarios por gramo de heces (PGH). La riqueza de especies de acantocefalos concuerdan con registros en ballenas azules capturadas o varadas del Pacífico y Atlántico. La coinfección por helmintos y protozoarios entéricos podrían ser de utilidad para distinguir niveles de infección en la población de la ballena azul.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## PP2C COMO UN MARCADOR EN EL DESARROLLO DE LA LEISHMANIASIS MURINA: UN ENFOQUE PATOLÓGICO

### PP2C AS A MARKER IN THE DEVELOPMENT OF MURINE LEISHMANIASIS: A PATHOLOGICAL APPROACH

Sánchez ADA\*, Pérez OO, Moreno RA, Aguirre GMM, Escalona MAR.  
maguirre@unam.mx

Laboratorio de Inmunobioquímica Molecular y Cardiopatías, Unidad Periférica de Investigación,  
Facultad de Medicina UNAM-INC, CDMX.

Palabras clave: Leishmaniasis, *Leishmania mexicana*, PP2C

La Leishmaniasis es una enfermedad causada por el piquete de una mosca hembra del género *Lutzomyia* al hospedero, la cual al momento de alimentarse inocula el parásito protozoario *Leishmania* spp. En México *Leishmania mexicana* ocasiona dos cuadros clínicos de la enfermedad en el humano: La Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL) y la Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD). La LCL, se caracteriza por la presencia de una úlcera en el sitio del piquete de la mosca, presenta fondo limpio bordes indurados, los cuales son sitios activos de la presencia del parásito, mientras los pacientes con LCD, presentan nódulos en todo el tegumento. El modelo experimental más utilizado para el estudio de esta enfermedad es el murino, por tal motivo el objetivo principal de este estudio es buscar moléculas que se expresen en los diferentes tiempos del desarrollo de la lesión en la leishmaniasis experimental y en este trabajo se estudia la proteína fosfatasa PP2C, como proteína clave en la severidad de la lesión, así mismo determinar la presencia de los parásitos en el tejido infectado. Los ratones hembras BALB/c se infectaron con los promastigotes de *L. mexicana*, aislados de los pacientes con LCL y LCD y un grupo de ratones sin infectar fue utilizado como control sano. Los resultados mostraron que el tamaño de la lesión se incrementó de acuerdo al tiempo y se observó una marca positiva para la proteína PP2C en los parásitos presentes en el tejido infectado mediante inmunohistoquímica, mientras que el tejido de animales sanos no mostró ninguna marca. Estos resultados muestran que la presencia de la proteína PP2C se expresa en relación con la severidad del daño.

El proyecto es apoyado por: DGAPA-PAPIIT IN218619 y CONACYT 284018.



## XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

***Trypanosoma* spp. EN HEMOLINFA DE GARRAPATAS *Rhipicephalus microplus*  
(RESISTENTES A IXODICIDAS) COLECTADAS DE GANADO BOVINO DE UN RANCHO EN  
TAMAULIPAS, MÉXICO.**

***Trypanosoma* spp. IN HEMOLYMPH OF *Rhipicephalus microplus* TICKS (RESISTANT TO  
IXODICIDES) COLLECTED FROM CATTLE IN A RANCH AT TAMAULIPAS, MÉXICO**

Ramos-Aragón JA<sup>1</sup>, Martínez F<sup>2</sup>, Bautista Garfias CR<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Km 11 Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla, No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos, CP 62550, México

<sup>2</sup>SENASICA, Jiutepec, Morelos  
foto.dibujo@gmail.com

### Resumen

La garrapata *Rhipicephalus microplus* (vector de *Babesia bovis* y *B. bigemina*) ha desarrollado resistencia a diferentes ixodicidas en México, por lo que constantemente se monitorean diferentes ranchos ganaderos en la República Mexicana. Para verificar la resistencia a diversos ixodicidas, se examinaron garrapatas de bovinos del rancho ganadero "Tenasitas" ubicado en Soto la Marina, Tamaulipas y al mismo tiempo se examinó la hemolinfa de 60 garrapatas adultas (frotis de hemolinfa teñidos con Giemsa y observados en el microscopio óptico). En cuanto a la evaluación de la resistencia a ixodicidas, utilizando dosis discriminantes, se observaron los siguientes porcentajes de dicha resistencia: 14.97% a Clorfenvinfos, 32.98% a Coumaphos (0%) a Diazinon, 2.56% a Flumetrina, 7.45% a Deltametrina, 2.04% a Cipermetrina, 62.64% a Fipronil y 96.41% a Amitraz. Al verificar la presencia de *Babesia* spp. en la hemolinfa de las garrapatas, se observaron tres (5%) con vermículas de *Babesia* spp. y ningún otro parásito. Un resultado inesperado fue la observación de epimastigotes de *Trypanosoma* spp. en la hemolinfa de tres garrapatas (5%) y ningún otro parásito. Al parecer las vermículas *Babesia* spp. excluyeron la presencia de epimastigotes de *Trypanoma* spp. y viceversa. Los resultados obtenidos indican el incremento de la resistencia a distintos ixodicidas en garrapatas *R. microplus* así como la probable adaptación a las garrapatas de un parásito hemoflagelado, del que no se conoce mucho, por lo que se requiere de más estudios para determinar si es patógeno para la garrapata o bien si pudiera representar una amenaza para la salud de los bovinos.





# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACION *in vitro* DE NUEVOS DERIVADOS DE 1-4 AMINO NAFTOQUINONAS EN EPIMASTIGOTE DE *Trypanosoma cruzi*.

## *In vitro* EVALUATION OF NEW DERIVATIVES OF 1-4 AMINO NAPHTOQUINONES IN EPIMASTIGOTE OF *Trypanosoma cruzi*.

Ruiz GEG<sup>\*1</sup>, Muñoz GPL<sup>1</sup>, Elizondo AER<sup>1</sup>, Suárez ADA<sup>2</sup>, Zarate RJ<sup>1</sup>, Salas CO<sup>3</sup>, Vázquez CKW<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, Nuevo León, México.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

<sup>3</sup>Facultad de Química y de Farmacia, Pontificia Universidad Católica de Chile, Región Metropolitana de Santiago, Chile.

Dra. Karina Wendoline Vázquez Cisneros

karina.vazquezcn@uanl.edu.mx kwwazque@hotmail.com

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, Naftoquinonas, Citotoxicidad.

### Resumen

La Tripanosomiasis Americana también conocida como Enfermedad de Chagas es una enfermedad zoonótica causada por el agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, el cual es un hemoparásito que afecta a mamíferos incluyendo al ser humano. El tratamiento empleado desde hace más de cuarenta años son el nifurtimox y benznidazol, los cuales han demostrado poca efectividad en la fase crónica de la enfermedad, así como efectos adversos de consideración y en el campo de la Medicina Veterinaria no existe tratamiento. Buscando encontrar nuevas alternativas terapéuticas se realizó el estudio biológico de 5 nuevos compuestos derivados de naftoquinonas. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad tripanosomicida por método *in vitro* en la cepa INC5 de epimastigotes, para obtener el %PIC (porcentaje de inhibición de crecimiento). Posteriormente se obtendrá el IC<sub>50</sub> (concentración inhibitoria del cincuenta por ciento de la población de la población de parásitos) se realizará un comparativo con los fármacos de referencia, así como la evaluación de citotoxicidad en línea celular.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD TRIPANOSOMICIDA DE DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS SOBRE CEPAS MEXICANAS Y SUDAMERICANAS DE *Trypanosoma cruzi*

### *In vitro* EVALUATION OF TRYPANOSOMICIDAL ACTIVITY OF NAPHTOQUINONE DERIVATIVES ON MEXICAN AND SOUTHAMERICAN STRAINS OF *Trypanosoma cruzi*

Suárez ADL\*<sup>1</sup>, Ortiz PMM<sup>2</sup>, Zárate RJJ<sup>2</sup>, Noguera TB<sup>3</sup>, Salas, CO<sup>4</sup>, Molina GZJ<sup>1</sup>, Vázquez CKW<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ciudad Universitaria, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

<sup>2</sup>Campus de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, Nuevo León, México.

<sup>3</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Parasitología, IPN, México, DF 11340, Mexico.

<sup>4</sup>Pontificia Universidad Católica de Chile, Departamento de Química Orgánica, Santiago, Chile.  
karina.vazquezcn@uanl.edu.mx kwvazque@hotmail.com

Palabras clave. *Trypanosoma cruzi*, Naftoquinonas, Antiparasitarios.

#### Resumen

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, es un padecimiento provocado por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, siendo responsable de miles de muertes alrededor del mundo, a pesar de encontrarse principalmente en el continente americano. Aunque actualmente se encuentran comercialmente disponibles dos medicamentos contra la enfermedad, ambos han tenido múltiples efectos adversos, que en ocasiones provocan que el paciente deje el tratamiento. Su falta de efectividad es uno de los principales impulsos en la búsqueda de nuevos compuestos con la capacidad de atacar al parásito con efectos secundarios mínimos. Además de ello, se ha visto que de acuerdo a la zona geográfica en la que habita el mamífero infectado, el parásito tiene un comportamiento diferente, siendo más, o menos resistente al tratamiento. Debido a esto, una de las alternativas planteadas, es el uso de Naftoquinonas, pues se ha comprobado que poseen actividad tripanosomicida. En el presente estudio, 7 compuestos derivados de Naftoquinonas fueron puestos a prueba de manera *in vitro* contra diversas cepas de *T. cruzi*, evaluando su actividad tripanosomicida. Las cepas utilizadas fueron INC-5 y NINOA (mexicanas), así como las cepas sudamericanas CL Brener y Y. Los resultados sugieren que los derivados de Naftoquinonas probados tienen actividad tripanosomicida, siendo el compuesto 3e el más sobresaliente. Así mismo, se pudo constatar que las cepas mexicanas presentan mayor resistencia a compuestos tripanosomicidas, en comparación con cepas de origen sudamericano. Todo lo anterior nos sugiere que las Naftoquinonas tienen un alto potencial como tratamiento para la tripanosomiasis americana en diversas regiones de América.



# XI CONGRESO NACIONAL DE PARASITOLOGÍA VETERINARIA

## FRECUENCIA DE PARÁSITOS ZONÓTICOS EN PERROS DE UN ALBERGUE EN LA CIUDAD DE MÉXICO

### FREQUENCY OF ZONOTIC PARASITES IN DOGS FROM A SHELTER IN MEXICO CITY

Villavicencio AM<sup>1</sup>, Soberanis RO<sup>1</sup>, Figueroa CJA\*<sup>2</sup>

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000. Ciudad Universitaria. Coyoacán. CP 04510. CdMX.

<sup>1</sup>Depto. de Medicina, Preventiva. <sup>2</sup>Depto. de Parasitología.  
ficajuan@unam.mx

Palabras clave: Parásitos, Perros, Albergue

#### Resumen

La Brigada de Vigilancia Animal (BVA) es una unidad dedicada al cuidado y protección de los animales que habitan o transitan por la Ciudad de México, sustentando su actuación en la Ley de Protección a los animales de la Ciudad de México, con la finalidad de prevenir el maltrato hacia los animales, mediante la tenencia responsable. Entre sus actividades se encuentran; rescatar animales de las vías primarias y secundarias, así como de alta velocidad y brindar protección a los animales abandonados o que sean maltratados. Con el objetivo de determinar la diversidad de parásitos gastrointestinales en los perros albergados por la BVA en su unidad ubicada en la alcaldía de Xochimilco en la Cd. Mx., se colectaron individualmente muestras de heces e improntas de la región perianal de los 104 perros albergados en el periodo de septiembre de 2017 a marzo de 2018. Todas las heces se recogieron del suelo procurando que fueran recientes y sólo se tomó la parte superior. Las improntas de la región perianal se realizaron y examinaron conforme la técnica de Graham en busca de huevos de cestodos. Las heces se conservaron en una hielera con refrigerantes y se trasladaron al Laboratorio de Investigación del Departamento de Parasitología de la FMVZ-UNAM donde fueron analizadas mediante las técnicas; macroscópica directa, Faust y Kinyoun para detectar parásitos adultos o fragmentos de estos, quistes de *Giardia*, huevos de helmintos y ooquistes de *Cryptosporidium*. El 69.2% de los 104 perros fueron positivos a algún parásito. La mayoría con infecciones monoespecíficas (53.8%). El género encontrado con mayor frecuencia fue *Giardia* spp (26.9%), seguido de *Dipylidium caninum* (26%), *Ancylostoma caninum* (14.4%), *Cryptosporidium* spp (10.6%), *Taenia* spp (5.8%) y *Toxascaris leonina* (4.8%). Se concluye que los cuatro parásitos más frecuentes tienen potencial zoonótico, adicionalmente, el uso complementario de cuatro técnicas parasitológicas permite la detección de una mayor diversidad de parásitos.