

Evaluación del comportamiento leucocitario en ovejas a pastoreo como un criterio para determinar la susceptibilidad a la infección con estróngilos digestivos. Evaluation to use the white blood cells in grazing sheep as a criteria for determine susceptibility to infection with strongilyds parasites.

Espartaco, Sandoval: Investigador y Técnico asociado a la investigación, respectivamente. INIA. Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Yaracuy. Vía aeropuerto las Flores, km 3 sector la Ermita. Apdo. 110. San Felipe 3201, Estado Yaracuy. Venezuela. E-mail: esandoval@inia.gob.ve | **Gustavo, Morales:** Investigador. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas | **Luz Arelis, Pino:** Investigador. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas | **Delia, Jiménez:** Ejercicio libre de la profesion | **Oswaldo, Marquez:** Investigador y Técnico asociado a la investigación, respectivamente. INIA. Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Yaracuy. Vía aeropuerto las Flores, km 3 sector la Ermita. Apdo. 110. San Felipe 3201, Estado Yaracuy. Venezuela. E-mail: esandoval@inia.gob.ve

R7EDVET: 2007, Vol. VIII Nº 9

Recibido: 12 Junio 2007 / Referencia: 09012_RED VET / Aceptado: 16 Agosto 2007 / Publicado: 01 Septiembre 2007

Está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090721.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Resumen

A objeto de determinar la posibilidad de emplear el comportamiento celular leucocitario, como criterio de selección en ovejas tropicales infectadas naturalmente con estróngilos digestivos, 40 animales hembras fueron seleccionados al azar de un rebaño de ovejas mestizas West African. Muestras de heces fueron colectadas cada 15 días durante 04 meses y procesadas por la técnica de Mc Master. Niveles de infección individual, fueron determinados en base a los resultados de la coproscopia. Durante el tercer muestreo muestras de sangre fueron tomadas para determinación del indicador hematocrito, número total de leucocitos, recuento diferencial y eosinófilos absolutos. La misma evaluación fue realizada al final del ensayo. Para determinar la influencia de la infección parasitaria sobre las variables, los animales fueron sometidos a tratamiento antihelmíntico, durante el cuarto muestreo, concomitantemente se aplicó un antianémico/anabolizante. Los altos contajes de eosinófilos determinados durante el periodo pretratamiento sugieren que este tipo de células están asociadas con la respuesta protectora de tipo inmune, ya que una vez disminuido el estímulo antigénico de las poblaciones de parásitos estos disminuyen, así como su relación inversa con los niveles de infección. El aumento en el contaje total de leucocitos, se corresponde a la eosinofilia observada. Las variaciones en el hemograma relacionadas a elevados contajes de hpg, sugieren que este criterio puede ser usado como indicador

patológico para determinar condición de resistencia o susceptibilidad al parasitismo, al asociar estas respuestas con el grado de reacción inmune.

Palabras clave. Eosinófilos | inmunidad | helmintos | leucocitos | ovinos |

Summary

The aims of this work was to evaluate the possibility to use the dynamic of blood white cells as a criteria of selection approach in tropical sheep infected under natural conditions with gastrointestinal nematodes. A total of 40 female sheep were selected at random within a crossbred West African flock. The faeces sampling was carried out every 15 days during 04 months and the coproscopical technique of Mc Master was used to obtain quantitative diagnosis in order to establish the individual degree of infection. Samples of blood for determination of the haematocric value (%), total number of leukocytes, differential count and absolute eosinophils were taken during the third faeces sampling. Similar blood evaluation was carried out at the end of the trial. To determine the influence of the parasitic infection on the variables, the animals were drenched during the fourth sampling, simultaneously the sheep received an antianemic/anabolism. The high counts of eosinophils during the pre-treatment period suggests that this type of cells was associated with the protective response of immune type, because of when the parasite egg counts (epg) diminished the percentage of eosinophils diminished too. The increase in the total leukocyte counts is consequence of the eosinophiles rise. The relations between the variations in the haemogram and the high epg counts, suggest that this approach can be used as pathological criteria to determine resistance condition or parasitism susceptibility, when these responses can be associated with the degree of immune reaction.

Keywords. Eosinophils | immunity | helminths | leukocytes | ovine |

Introducción

La producción ovina representa una importante alternativa para suplir parte de los requerimientos de calorías y proteínas demandados por la población humana, representando un 8% de la oferta mundial de carne, aparte de la obtención de productos como leche, lana y pieles entre otros (Figueredo e Iser, 2005). Por otra parte, la estrogiloidosis es una infección parasitaria de amplia distribución mundial, sobre todo en zonas tropicales y sub tropicales (Ruano *et al.*; 2005), representando en esta especie una importante limitante para su explotación, ya que a través de infecciones múltiples, provocan trastornos digestivos, anemias, disminución de la producción e inclusive la muerte (Morales *et. al.*; 2001a).

En la actualidad se considera que una alternativa viable para lograr el control sustentable de la estrogilosis digestiva de los rumiantes, radica en el uso de animales genéticamente resistentes a la infestación (Mandonnet, 1995), esta condición es de naturaleza genética y por consiguiente heredable, constituyendo un carácter de gran importancia que debe ser considerado a la hora de establecer un programa de selección de animales (F.A.O, 2003). Parte de esa condición de resistencia esta ligada a la respuesta inmune generada para eliminar el agente infeccioso (Meeusen, 1999).

El objetivo de este trabajo, consistió en determinar la posibilidad de emplear el comportamiento celular leucocitario, como criterio de selección en ovejas tropicales infectadas naturalmente con estrórgilos digestivos, al asociar el grado de respuesta inmune con condiciones de resistencia.

Materiales y métodos

La investigación se llevo a cabo en un rebaño de ovejas mestizas West African, sometidas a un sistema agrosilvopastoril de explotación, localizado en el asentamiento de Agua Viva, municipio Peña del estado Yaracuy, ubicado a 9° 59' de latitud norte y 69° 06' de longitud oeste, a una altura de 350 msnm. El área de estudio se corresponde con una zona de bosque seco tropical, presentando un periodo de lluvia aproximadamente de 6 meses y una precipitación promedio de 1.100 mm/año.

40 animales hembras fueron seleccionados al azar, presentando un peso promedio de 22,2± 10,1 kg y una edad aproximada de 19,2 meses. Muestras de heces fueron colectadas directamente de la ampolla rectal cada 15 días durante 04 meses. Estas fueron procesadas por la técnica de Mc Master modificada (Morales y pino, 1977) y sus resultados expresados en huevos por gramos de heces. Los niveles de infección individual, fueron determinados en base a los resultados de la coproscopia y empleando las referencias expuestas por (Hansen y Perry, 1994).

Durante el cuarto muestreo muestras de sangre fueron tomadas asépticamente de la vena yugular, para determinación del indicador hematocrito por la técnica de la microcentrifugación. El número total de leucocitos se efectuó mediante el uso del hemocitómetro y solución de Turk. Para el recuento diferencial se realizo un frotis sanguíneo coloreado con Wright (Schal *et al.*, 1981). Los eosinófilos absolutos, fueron contados directamente empleando el método del tubo y el hemocitómetro (Zarrow *et al.*, 1964). La misma evaluación fue realizada al final del ensayo (muestreo 08).

A objeto de determinar la influencia de la infección parasitaria sobre las variables estudiadas, los animales seleccionados fueron sometidos a tratamiento antihelmíntico, durante el cuarto muestreo, empleando un producto comercial de larga persistencia, conteniendo 10 mg de ivermectina por ml, a la dosis sugerida de 200 Mcg/k, (1 ml/50 kg pv) administrado por vía subcutánea detrás de la paleta. De igual manera se aplico por tres veces a un intervalo de 48 horas vía intramuscular, un antianémico/anabolizante a la dosis de 1 ml por cada 25 kilos.

Para la comparación de las medias obtenidas se empleo la prueba de T y se fijó un nivel mínimo de significación de 5% usando como software estadístico el MINITAB RELEASE 13 (2000).

Resultados y discusión

Cuadro I. Valores leucocitarios en ovejas infectadas por estróngilos digestivos pre y postratamiento con ivermectina de acuerdo al nivel de infección

Variable	Nivel	Pre tratamiento		Post Tratamiento	
		N	Media	N	Media
Leucocitos totales	1	9	8.017	18	7.383
	2	3	8.917	15	7.764
	3	23	10.076	1	10.000
% Segmentados	1	9	41	18	32
	2	3	50	15	35
	3	23	40	1	30
% Linfocitos	1	9	50	18	51
	2	3	44	15	48
	3	23	56	1	51
% Eosinófilos	1	9	20	18	6
	2	3	18	15	3
	3	22	16	1	6

Eosinófilos x mm ³	1	9	478	18	256
	2	3	450	15	250
	3	22	400	1	150

Nivel 1: negativo Nivel 2: moderado Nivel 3: grave

En el cuadro 1, se puede observar que los valores de leucocitos totales obtenidos para los diferentes niveles de infección, se encuentran entre los rangos superiores reportados como fisiológicamente normales para la especie (Sandoval *et al.*, 1996), tanto en el periodo pre como en el postratamiento, presentando una moderada disminución, de apenas un 7%, para el periodo postratamiento. De igual manera es interesante destacar que a medida que aumentan el nivel de infección, los valores se incrementan, tanto en el periodo pre como en el postratamiento.

En el caso particular de los eosinófilos estos disminuyen a medida que aumenta el nivel de infección, tanto en el valor relativo como absoluto.

El comportamiento del resto de la serie, segmentados y linfocitos muestran un comportamiento irregular, sin presentar mayores variaciones durante el periodo de observación.

Cuadro II. Valores hematológicos en ovejas infectadas por estróngilos digestivos pre y postratamiento con ivermectina

Variable	Periodo	N	Media	D S	P
Leucocitos totales	Pretratamiento	34	9.307 b	3.951	0,029
	Postratamiento	34	7.662 a	2.265	
% Segmentados	Pretratamiento	34	40	19	0,073
	Postratamiento	34	33	11	
% Linfocitos	Pretratamiento	34	55	18	0,200
	Postratamiento	34	49	13	
% Eosinófilos	Pretratamiento	34	17 b	6	0,000
	Postratamiento	34	4 a	5	
Eosinófilos x mm ³	Pretratamiento	34	425 b	251	0,002
	Postratamiento	34	250 a	150	
Hematocrito	Pretratamiento	34	0,273 a	4	0,000
	Postratamiento	34	0,366 b	4	

Letras Distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

N: número de animales muestreados

DS: desviación Standard

Al contrastar los valores promedios de leucocitos totales entre los periodos de pre y postratamiento con ivermectina (cuadro 2), se observa una disminución con diferencias significativas ($p < 0,05$) para el valor de postratamiento.

Los valores relativos promedios de segmentados y linfocitos, presentan una moderada disminución para el periodo postratamiento sin diferencias estadísticamente significativas. Para el caso de los valores promedio, tanto relativo y absoluto de los eosinófilos, se observa una disminución para el periodo postratamiento con diferencias estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Los procesos evolutivos desarrollados por los parásitos para asegurar la supervivencia y distribución de su progenie, han conducido su ajuste a variables bioquímicas, anatómicas y fisiológicas de sus hospedadores (Suárez, 1986); sin embargo, los parásitos exponen antígenos estructurales o funcionales en los distintos estados de su evolución ontogénica, que inician, reacciones inmunes en el hospedador. Esta respuesta que conduce a inmunidad a las infecciones, se corresponde a mecanismos básicos de tipo celular y humoral, que intentan la eliminación de estados parasitarios en diferente nivel de desarrollo y/o adultos, por medio de mecanismos de citotoxicidad mediada por células efectoras tales como los eosinófilos (Meeusen, 1999). La asociación de incremento de los valores de eosinófilos periféricos con la infección parasitaria, ha sido bien documentada (Stear, *et al.*, 2000; Noemí, 1999; Jones, 1993). Estos incrementos son considerados dependientes de la edad del hospedador, experiencia de parasitismo y del grado de respuesta inmunológica (Romero y Boero, 2001), esta última relacionada con condiciones genéticas (Gasbarre, *et al.*, 1993).

Los altos contajes de eosinófilos determinados en este estudio durante el periodo de pretratamiento coinciden con los resultados de Hooda *et al.*, (1999) y sugieren que este tipo de células están asociadas con la respuesta protectora de tipo inmune, ya que una vez disminuido el estímulo antigénico de las poblaciones de parásitos (cuadro 3), igualmente los valores promedios de estas células disminuyen (cuadro 2). De igual manera estos resultados reflejan que el aumento, aunque en rangos fisiológicamente normales, en el contaje total de leucocitos, se corresponde a la eosinofilia observada como producto de la estimulación inmunológica por parte de antígenos de helmintos parásitos.

En este sentido, se ha demostrado una mayor infiltración de eosinófilos en la mucosa gastrointestinal de animales resistentes, lo que indica una mejor reacción inmunológica (Romero y Boero, 2001). Estos resultados son validados en nuestro trabajo al observar mayor valor de estas células en los grupos de animales con niveles negativos o moderados de hpg. La alta respuesta eosinófila en animales negativos o con cargas moderadas, sugiere un adecuado grado de resistencia (Buddle *et al.*, 1992), que bien puede ser usado como indicador de la misma en la selección de animales de descarte o de futuros reproductores. Estos resultados, al considerar que el trabajo se realizó sobre un rebaño mestizo predominantemente West African, evidencian la importancia de reconocer que frente a la resistencia parasitaria, es más importante considerar las variaciones dentro de un mismo tipo racial que entre razas (Morales *et al.*, 2006).

La escasa variación entre los valores de pre y posinfección para los segmentados y linfocitos, se corresponde a que la función primaria de estas células, no está directamente relacionada con el proceso parasitario.

El valor hematocrito (cuadro 2), presenta valores compatibles con anemia durante el periodo de observación previo al tratamiento, para luego reflejar un notable incremento en la etapa posterior mostrando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). En el parasitismo gastrointestinal, la anemia es considerada un hallazgo común y generalmente asociado a la presencia de especies hematófagas (Urquhart *et al.*, 1999). Debido a la alta correlación entre el hpg y el indicador hematocrito (Romjani *et al.*, 1996) y entre hpg y el grado de anemia (Luffau *et al.*; 1990), la presencia de esta ha sido sugerida como una alternativa para apuntalar los criterios de selección (Morales *et al.*, 2001b).

Los resultados de este trabajo demuestran que la disminución de los valores de hematocrito están relacionados a elevados contajes de hpg, sugiriendo que este criterio puede ser usado

como indicador patológico para determinar condición de resistencia o susceptibilidad al parasitismo.

Cuadro III. Efecto del tratamiento con ivermectina en ovejas infectadas naturalmente por estróngilos digestivos

Variable	Periodo	N	Media
HPG	Pretratamiento	39	2.274
HPG	Postratamiento	34	86,2

Conclusiones.

- El incremento en los valores de eosinófilos en relación inversa a la carga parasitaria sugieren que este tipo de células están asociadas con la respuesta protectora de tipo inmune en animales resistentes a la infección parasitaria.
- En el marco del empleo de estrategias integrales de control parasitario, estos resultados ofrecen la oportunidad de ser incorporados como criterio para determinar condición de resistencia o susceptibilidad al parasitismo.

Bibliografía

1. BUDDLE, B.; Jowett, G.; Green, R.; Douch, P.; 1992. Association of blood eosinophilia with expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *International Journal for Parasitology*. 22(3):955-960.
2. FIGUEREDO, B.; Iser Del Toro, M.; 2005. Los ovinos una producción de bajos insumos. REDVET. 6(9). <http://www.veterinaria.org/revista/redvet/n090905.html>.
3. GASBARRE, L.; Leighton, E.; Davies, C. 1993. Influence of host genetics upon antibody responses against gastrointestinal nematode infections in cattle. *Veterinary Parasitology*. 46(1):81-91.
4. HANSEN, J.; Perry, B. (1994). The epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of ruminants . International Laboratory for research on Animal Disease. Nairobi, Kenya.171 pags.
5. HOODA, V.; Yadav, C.; Chaudhri, S.; Rajpurohit, B. 1999. Variation in resistance to haemonchosis: selection of female sheep resistant to *Haemonchus contortus*. *Journal of Helminthology*. 73(2):137-142.
6. JONES, D. 1993. The eosinophil. *Journal of Comparative Pathology*. 108(2):313-335.
7. LUFFAU, G.; Vu Tien Khang, J.; Bouix, J.; Nguyen, T.; Cullen, P.; Ricordeau, G. 1990. Resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Romanov sheep. *Genetic Selection and Evolution*. 2(2):205-299.
8. MANDONNET , N (1995). Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastrointestinaux chez les petits ruminants . Elements pour la definition d'objectifs et de critères de sélection en milieu tempéré ou tropical .These Docteur en Scinces .Orsay , Paris. Université de Paris XI , 115 pp.
9. MEEUSEN, E. 1999. Immunology of helminth infections, with special referente to immunopathology. *Veterinary Parasitology*. 84(3-4):259-273.
10. MINITAB.INC. 2000. Data analisis and quality tools .Release 13 for windows Adobe Systems Incorporated .State College, Pensilvania, U.S.A. 2000.
11. MORALES, G.; Pino, L. A.; Sandoval, E.; Florio, J.; Jiménez, D. 2006. Niveles de infestación parasitaria y condición corporal en bovinos doble propósito infectados en condiciones naturales. *Revista electrónica de Veterinaria REDVET*. 7(4). <http://www.veterinaria.org/revista/redvet/n040406.html>
12. MORALES, G.; Pino, L.A.; Gonzalez de Moreno, L. 2001 a. Carga parasitaria y riqueza específica de nematodos strongylida en bovinos a pastoreo. *Vet. Trop*. 26(2):109-116.

13. MORALES, G.; Pino, L. A.; Sandoval, E.; Moreno, L.; Jiménez, D.; Balestrini, C. 2001 b. Dinámica de los niveles de infección por estrongilidos digestivos en bovinos a pastoreo. *Parasitología al Día*. 25(3-4):115-120.
14. MORALES, G.; Pino, L. A. 1977. Manual de diagnóstico helmintológico en rumiantes. Caracas, Venezuela. 99pp.
15. NOEMI, I. 1999. Eosinofilia y parasitosis. *Revista Chilena de Pediatría*. 70(5):1-7.
16. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (F.A.O). Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América latina. *Estudio FAO Producción y Sanidad Animal*. 157:1-51. 2003.
17. ROMERO, J.; Boero, C. 2001. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en las regiones templadas y cálidas de la Argentina. *Analecta Veterinaria*. 21(1).21-37.
18. ROMJALI, E.; Pandey, V.; Batubara, A.; Gatney, R.; Verhulst, A. 1996. Comparison of resistance of four genotypes of rams to experimental infection with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 65(1):167-177.
19. RUANO, A.; Martín, T.; Pardo, J.; López-Abán, J.; Muro, A. 2005. Avances en el estudio sobre la estrongiloidosis. *Enfermedades Emergentes*. 7(2):102-109.
20. SANDOVAL, E.; Espinoza, E.; Valle, A. 1996. Leucopenia y trombocitopenia en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Veterinaria Tropical*. 21(1):13-33.
21. SCHALM, M.; N. Jain; E. Carroll. 1981. *Hematología Veterinaria*. (1ª Ed.) Hemisferio Sur. Buenos Aires (Arg.). 857 p.
22. STEAR, M.; Bairden, J.; Duncan, P.; Eckersall, G.; Fishwick, G.; Graham, P.; Holmes, P.; McKellar, Q.; Mitchell, S.; Murray, M.; Parkins, J.; Wallace, D. 2000. The influence of relative resistance and urea-supplementation on deliberate infection with *Teladorsagia circumcincta* during winter. *Veterinary parasitology*. 94(1-2):45-54.
23. SUAREZ, V. 1986. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en ovejas de la región semiárida pampeana. *Revista Medica veterinaria*. 67(4):190-202.
24. URQUHART, G.; Armour, J.; Duncan, J.; Dunn, A.; Jennigs, F. 1999. *Veterinary Parasitology*. Blackwell Science, 2nd Edition, United Kingdom, 307 pp.
25. ZARROW, M.; Yochim, J.; McCarthy, J. 1964. *Experimental endocrinology. A source of basic techniques*. New York and London, Academic Press. Pp. 166-204.

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesinas, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder vía web a través del portal [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org) <http://www.veterinaria.org> o en **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por correo electrónico solicitándolo a redvet@veterinaria.org

Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con redvet@veterinaria.org después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Veterinaria Organización S.L.® - (Copyright) 1996-2007- E_mail: info@veterinaria.org