

PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN OVINOS DE PELO PARA ABASTO CONTRA NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN TABASCO, MÉXICO

IMMUNOLOGICAL PARAMETERIS IN HAIR SHEEP FOR SUPPLY AGAINST GASTROINTESTINAL NEMATODES IN TABASCO, MÉXICO

Alvarado-Alvarado, A.¹; González-Garduño, R.^{1*}; Zaragoza-Vera, M.²; Zaragoza-Vera, C.²; Arjona-Jiménez, G.²; López-Arellano, M.E.³; Navarro Martinez, F.¹

¹Unidad Regional Universitaria Sursureste, Universidad Autónoma Chapingo. km 7.5 Carr. Teapa-Vicente Guerrero. Teapa, Tabasco, México. ²División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Teapa, km 25, CP 86280. Villahermosa, Tabasco, México. ³Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 11.5, Carr. Fed. Cuernavaca-Cuautla, #8534. Col. Progreso, 62550, Jiutepec, Mor., México.

*Autor de correspondencia: robgardu@hotmail.com

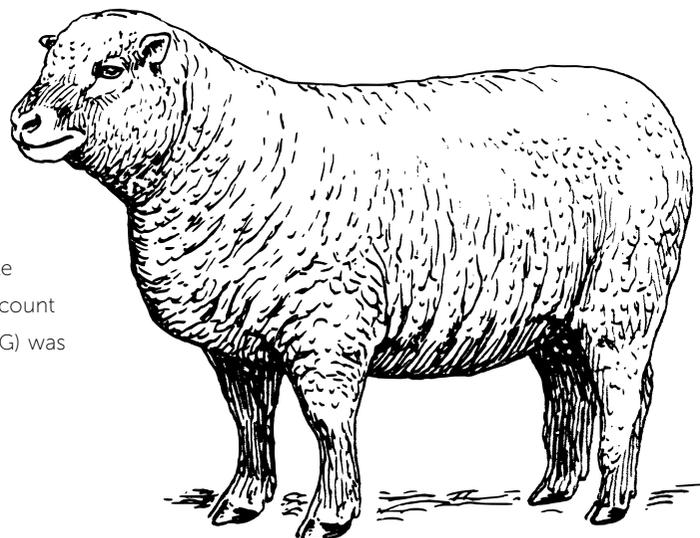
RESUMEN

Se realizó un estudio en un rastro de ovinos en Tabasco, México para determinar parámetros inmunológicos en ovinos, mediante muestras de sangre, saliva, heces y mucosa de intestino delgado y abomaso de n=60. Se determinó el volumen celular aglomerado (VCA), proteína plasmática (PP) y conteo diferencial de leucocitos. A partir de las heces se obtuvo el número de huevos de nematodos por gramo (HPG) y contabilizaron parásitos adultos de abomaso e intestino delgado. Se determinó el nivel de inmunoglobulina A (IgA) contra *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*, y estimaron correlaciones entre las variables. Los borregos que tuvieron la mayor cantidad de nematodos adultos (534), presentaron mayor eliminación de huevos de (2401 a 12501 HPG). Los promedios del VCA y PP fueron mayores, 34.5% y 7.6 g dL⁻¹, respectivamente, en ovinos que se habían estabulado en comparación con aquellos en pastoreo, 32.3% y 7.1 g dL⁻¹ respectivamente. Los mayores conteos de linfocitos y eosinófilos periféricos (7812 y 124 respectivamente) ocurrieron en los ovinos en pastoreo. El VCA fue mayor, 36.9%, en aquellos animales que estaban libres de nematodos y menor en los parasitados (31.1%). La actividad de la IgA fue mayor en mucosa de abomaso, 1.33±0.92 y correlacionó de manera significativa con la IgA en suero. Por la variabilidad de los ovinos para abasto, los IgA de mucosa y eosinófilos tuvieron poca relación con los parámetros parasitológicos y hematológicos.

Palabras claves: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, inmunidad local, Inmunoglobulinas, leucocitos.

ABSTRACT

A study was carried out in a sheep slaughterhouse in Tabasco, México, to determine immunological parameters in sheep, through blood, saliva, feces and mucous samples from small intestine and rennet of n=60. The cell agglomerate volume (VCA), plasma protein (PP), and leukocyte differential count were determined. The number of nematode eggs per gram (HPG) was



Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 2, febrero. 2017. pp: 47-52.

Recibido: marzo, 2016. **Aceptado:** noviembre, 2016.

obtained from feces, and adult parasites from rennet and small intestine were counted. The level of immunoglobulin A (IgA) was determined against *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*, and the correlations between variables were estimated. The sheep that had the highest number of adult nematodes (534) presented greater elimination of eggs (2401 to 12501 HPG). The average VCA and PP were higher, 34.5% and 7.6 g dL⁻¹, respectively, in sheep that had been stabled compared to those in grazing, 32.3% and 7.1 g dL⁻¹, respectively. The highest counts of lymphocytes and peripheral eosinophils (7812 and 124, respectively) were present in grazing sheep. The VCA was higher, 36.9 %, in those animals that were free from nematodes and lower in those with parasites (31.1%). The activity of the IgA was higher in rennet mucous, 1.33±0.92, and correlated significantly with IgA in serum. Because of the variability of sheep for supply, the IgA from mucous and eosinophils had scarce relation to the parasitological and hematological parameters.

Keywords: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, local immunity, immunoglobulins, leucocytes.

evaluar algunos parámetros de la inmunidad a nivel local contra nematodos gastrointestinales y su relación con los parámetros parasitológicos y de salud en ovinos de pelo al sacrificio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un rastro privado de ovinos en la localidad de Jolochero, municipio de Centro, Tabasco, México (18° 04' 37" N y 92° 51' 48" O). Cada quince días se tomaron muestras de 10 ovinos destinados al abasto durante tres meses. Momento antes del sacrificio se registró el género, estado fisiológico y se estimó la edad de los animales a través de la dentadura mediante la descripción indicada por Luengo *et al.* (1991). De cada animal se recolectaron muestras de heces, sangre y saliva, y posterior al sacrificio se colectó mucus de abomaso e intestino delgado. En el estado fisiológico se incluyeron tres categorías: machos, hembras vacías y hembras gestantes. Los sistemas de producción consideraron dos tipos: los animales provenientes de pastoreo y los ovinos engordados en estabulación. También se generó una clasificación de excreción de huevos con las siguientes categorías: animales sin eliminación (HPG=0), los animales con conteos mayores a 50 hpg y menores de 640 HPG, los animales entre 640 y 2400 HPG, y aquellos animales con >2400 HPG, de acuerdo a la media menos tres errores estándar. Para la recuperación de NGL adultos se siguió el procedimiento descrito en López-Ruvalcaba *et al.* (2013). El mucus del abomaso y el intestino delgado se obtuvo raspando el tejido con una cuchara y colocando 2 ml de la fracción obtenida en tubos con 10 ml de un buffer (pH 7.1, 0.1 M de fosfato de sodio dibásico,

INTRODUCCIÓN

En el sureste de México la ovinocultura tiene un potencial productivo por la abundancia de recursos que se producen. Sin embargo, también proliferan las enfermedades parasitarias, entre las que destacan los nematodos gastrointestinales (NGI; Torres-Acosta y Hoste, 2008). Éstos son muy importantes porque afectan la productividad de los ovinos en pastoreo y los efectos negativos en la salud pueden llegar a provocar la muerte de los animales susceptibles (Esteban-Andrés *et al.*, 2013). Actualmente el control se ha basado en el uso de antihelmínticos comerciales (Papadopoulos, 2008). Sin embargo, debido al uso constante de estos medicamentos, los nematodos han desarrollado resistencia (Rialch *et al.*, 2013). Una de las alternativas para el menor uso de antihelmínticos es la identificación de animales que puedan desarrollar tolerancia hacia los nematodos (Morteo-Gómez *et al.*, 2003; Esteban-Andrés *et al.*, 2013); ya que se ha encontrado que después de varias infecciones, el sistema inmune se vuelve más fuerte (Bowdridge *et al.*, 2013) y los ovinos son capaces de resistir el ataque de los parásitos y ser productivos, por lo que surge la necesidad de identificar aquellos animales denominados resistentes y resilientes. El diagnóstico e identificación de los ovinos resistentes se ha realizado de manera tradicional mediante el conteo de huevos por gramo de heces (HPG) (Thienpont *et al.*, 1986). Sin embargo, es importante determinar su relación con algunos parámetros hematológicos y de inmunidad innata y humoral, que permitan utilizarlos como biomarcadores, y de esta manera identificar aquellos animales que presentan de manera natural respuestas inmunológicas que eviten o reduzcan la infección con NGI. Estas relaciones ya se han medido en razas de lana (Prada *et al.*, 2014; Martínez-Valladares *et al.*, 2005); mientras que en ovinos de pelo hasta el momento se sabe que hay individuos con una alta respuesta del sistema inmunológico contra NGI (Bowdridge *et al.*, 2013), pero este sólo se ha evaluado mediante la cuantificación del HPG (Dominik, 2005). Por lo anterior, la presente investigación se planteó con el objetivo

0.05 M de NaCl, mM de azida de sodio, 1 mM de floururo metil sulfonil (PMSF) y 5 mM de azida de sodio). Las muestras se conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento en el laboratorio de Sanidad Animal de la Unidad Regional Universitaria Sureste (URUSSE) de la Universidad Autónoma de Chapingo.

Procesamiento de muestras

Con las muestras de sangre se determinó el volumen celular aglomerado (VCA) por el método de microhematocrito (Benjamin, 1991). Por otra parte se utilizó un refractómetro para determinar la proteína plasmática (PP) y se expresó en g dL^{-1} . También se determinó el número de leucocitos por mm^3 de sangre y el número de eosinófilos con una solución de colorante Carpentier de acuerdo a Dawkins *et al.* (1989). Por otra parte, se realizaron frotis sanguíneo para determinar el conteo diferencial de leucocitos, y para ello se tiñeron los frotis, con hemocolorante rápido (Hycel, México) y se calculó el número de células de cada tipo leucocitario μl^{-1} de sangre. Una segunda muestra de sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos para obtener el suero, el cual se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para su posterior utilización en los ensayos de ELISA. También se tomaron muestras de saliva de los animales y se procesaron con la metodología propuesta por Shaw *et al.* (2012).

Determinación de inmunoglobulinas por ELISA

Los antígenos se prepararon de acuerdo a Bowdridge *et al.* (2013) y la concentración de proteínas se estimó por el método de Bradford (1976). Posteriormente, se fijaron los antígenos a las placas de poliestireno (Nunc Polysorb, USA) durante

toda la noche a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, a una concentración de $2.5\text{ }\mu\text{g}$ por ml en solución de carbonatos. Después se realizaron tres lavados de cinco minutos cada uno con PBST (PBS-Tween 20 al 0.05% a pH 7.2) y se procedió a bloquear los lugares libres de las placas con leche descremada al 5% en PBS-T, incubándola a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante una hora. Posteriormente se realizaron tres lavados de la misma forma que los anteriores, y se aplicaron los sueros (1:100), la saliva (1:20), el mucus de abomaso (1:1) o el mucus de intestino delgado (1:10), a los pozos. Se colocaron $100\text{ }\mu\text{l}$ por pocillo por duplicado, y se incubó durante una hora a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se repitió el proceso de lavado de la placa. El revelado de la reacción se llevó a cabo mediante la adición de $100\text{ }\mu\text{l}$ por pocillo de una solución de conjugado rabbit anti-sheep IgA (Bethyl Laboratories, Montgomery, AL, USA) a una dilución de 1:5,000 en PBS-T incubando durante una hora a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después se repitió el proceso de lavado de las placas, se procedió a aplicar el conjugado mediante la adición de $50\text{ }\mu\text{l}$ por pocillo de tetrametil bencidina (TMB, Sigma Aldrich, St Louis Missouri, EE.UU.), después se detuvo la reacción con $50\text{ }\mu\text{l}$ por pocillo de una solución de ácido sulfúrico 1M y se llevó a cabo la determinación de la densidad óptica a una longitud de onda de 450 nm. El valor final se obtuvo restando a cada pozo la densidad óptica resultante de los pozos sin suero lo cual representó la unión inespecífica del conjugado. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS (SAS, 2004). El conteo de nematodos y el HPG se transformaron a Log (variable+1), para reducir la varianza y aproximarlos a una distribución normal para después aplicar el siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + SP_i + EF_j + NL_k + Or_l + EF * NI_{jk} + NI * Or_{kl} + E_{ijklm}$$

Dónde: Y_{ijklm} =Variable respuesta (IgA, eosinófilos, PP, VCA, HPG, conteo de adultos). μ =Media general. SP_m =Efecto del i -ésimo sistema de producción (m =pastoreo, estabulación). $(EF)_j$ =Efecto del j -ésimo estado fisiológico (j =ovejas gestantes, vacías y machos). NL_k =Efecto del k -ésimo nivel de infección (0, 1-640, 641-2400, 2401-12550 HPG). Or_l =Efecto del l -ésimo origen (l =municipios y comunidades de Tabasco). $EF * NI_{jk}$ =Efecto conjunto del estado fisiológico y el nivel de infección. $NI * Or_{kl}$ =Efecto conjunto del nivel de infección y el origen. E_{ijklm} =Error experimental

También se calcularon las correlaciones entre IgA en mucosa gástrica, suero y saliva con cargas parasitarias, HPG y las variables hematológicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables parasitológicas

En los ovinos finalizados en estabulación pero previamente infectados en pastoreo, el conteo de HPG y el total de nematodos adultos de *T. colubriformis* fue mayor (2350 y 154 respectivamente) que aquellos animales que se encontraban en pastoreo (1104 y 27), mientras que el total de parásitos y el total de *H. contortus* fue igual en ambos tipos de animales (Cuadro 1).

A diferencia de lo que se esperaba, el mayor HPG se obtuvo en los ovinos estabulados porque previamente habían estado en pastoreo, además generalmente los animales engordados son machos, los cuales poseen más susceptibilidad que las hembras, tal como se ha observado en estudios previos

Cuadro 1. Efecto del sistema de producción y nivel de infección sobre el comportamiento parasitológico en ovinos de pelo.

Factor	Sistema de producción		Nivel de infección (HPG)			
	Estabulado	Pastoreo	0	1-640	641-2400	2401-12550
N	34	26	8	23	15	11
HPG ^a	2350±627 ^a	1104±338 ^b	0 ^c	256±39 ^{bc}	1283±126 ^b	6945±864 ^a
Total Hc ^b	136±52 ^a	104±58 ^a	10±10 ^b	89±45 ^b	43±16 ^b	377±155 ^a
Total Tc ^c	154±58 ^a	27±15 ^b	0 ^a	71±36 ^a	142±98 ^a	156±77 ^a
Total P ^d	290±73 ^a	131±65 ^a	10±10 ^b	160±54 ^b	186±96 ^b	533±172 ^a

Letras diferentes en la fila representan diferencias significativas (P<0.01). HPG: Huevos por gramos de heces, Hc: Conteo de *H. contortus*, Tc: Conteo de *T. colubriformis*, P: Conteo de parásitos.

(González et al., 2011). El valor fenotípico de la presencia de nematodos se registra in vivo con el número de HPG, y esta eliminación como era de esperarse dependió del número de parásitos adultos. Los borregos que presentaron la mayor cantidad de nematodos adultos de *H. contortus* (377) y también del total de nematodos (534) fueron los que tuvieron mayor eliminación de huevos (2401 a 12501 HPG) ya que en general la predicción de la cantidad de parásitos adultos presenta un alto coeficiente de correlación en especies altamente prolíficas como es *H. contortus* o *Mecistocirrus digitatus* (González et al., 2013).

Variables hematológicas

Los niveles del VCA y PP fueron mayores en los ovinos que se habían estabulado, mostrando promedios de 34±0.57% y 7.6±0.6 g dL⁻¹ respectivamente. En contraste, aquellos animales que provenían de pastoreo mostraron menor nivel de VCA y PP, con valores de 32±1% y 7.1±0.5 g dL⁻¹ respectivamente. En contraste, el conteo de linfocitos y eosinófilos fue mayor en los ovinos de en pastoreo (Cuadro 2).

El nivel de consumo y la calidad del alimento han sido algunos de los factores que influyen en la inmunidad y se han utilizado para incrementar la resistencia a las infecciones por parásitos gastrointestinales (Rocha et al.,

2011). Es por ello que se encontraron diferencias en el conteo entre los animales estabulados y los de pastoreo. Los altos conteos de linfocitos y eosinófilos generalmente ocurren en ovinos infectados con nematodos gastrointestinales y se trata de una respuesta inmune celular asociada al estímulo de los parásitos, por lo que era de esperarse que los animales que se encontraban en pastoreo tuvieran mayores valores de eosinófilos por estar en exposición continua a los nematodos. El VCA fue más alto en aquellos animales que estaban libres de parásitos (37±0.5 %) respecto a los que tenían altos conteos de *H. contortus* y por lo tanto, un alto HPG (31±1%), lo cual es consecuencia de los hábitos hematófagos de este parásito. Este comportamiento es algo habitual y muy reportado en la literatura para ovinos de lana (Amarante et al., 2004; Bricarello et al., 2004; Cardia et al., 2011). En el caso del género, el VCA y la PP de las hembras vacías (31% y 7.13±0.99 g dL⁻¹) y los machos (34% y 7.46±0.55 g dL⁻¹) fueron similares (P>0.05), mientras que el conteo de linfocitos y eosinófilos fue menor en machos con promedios de 5811±371 y 176±49, respectivamente, comparados con los de hembras que mostraron niveles de 8425±892 y 629±236, respectivamente. También el conteo de eosinófilos mostró tendencia a disminuir (96±42) en los borregos que estaban libres de huevos de nematodos en comparación con los infectados con 641 a 2400 HPG y eosinófilos de 458±196. Res-

Cuadro 2. Efecto del sistema de producción y el nivel de infección sobre el comportamiento de variables hematológicas.

Factor	Sistema de Producción		Nivel de infección (HPG)			
	Estabulado	Pastoreo	0	1-640	641-2400	2401-12550
N	34	26	8	23	15	11
VCA (%)	34±0.57 ^a	32±1 ^b	37±0.51 ^a	34±0.91 ^b	34±1.08 ^b	31±1.0 ^c
PP(g dL ⁻¹)	7.6±0.6 ^a	7.1±0.5 ^b	7.4±0.46 ^a	7.6±0.61 ^a	7.1±0.89 ^a	7.3±0.64 ^a
Linfocitos	5364±399 ^b	7812±552 ^a	6521±701 ^a	6527±490 ^a	6274±1207 ^a	5623±819 ^a
Eosinófilos	124±31 ^b	442±140 ^a	96±42 ^b	293±111 ^{ab}	458±196 ^a	103±32 ^b

N: número de ovinos, VCA: Volumen celular aglomerado. PP: Proteína plasmática. HPG: Huevos por gramo de heces. Letras diferentes en la fila representan diferencias significativas (P<0.01).

pecto a la PP y el conteo de linfocitos fueron iguales para todos los niveles de infección (Cuadro 2).

Actividad de la IgA

La densidad óptica registrada de la IgA a nivel local (mucus) fue mayor que la observada en suero y en saliva con cada uno de los antígenos usados (Cuadro 3).

Se pudo observar alta variabilidad en la DO de la IgA en el mucus entre los animales en estudio, lo cual también se ha indicado en otro estudio con ovinos Santa Ines, Suffolk e Ile de France contra *H. contortus* L3 y adultos (Amarante *et al.*, 2005) en la misma raza como como entre diferentes razas. En los ovinos sin infección aparente, la respuesta de IgA en abomaso fue menor (0.69 ± 0.21) que en los ovinos que tuvieron de 1 a 640 HPG (1.59 ± 0.20) (Cuadro 4). Mientras que aquellos animales con infecciones mayores a 641 HPG la OD de la IgA fue similar entre ellos. Esta misma situación se observó en saliva con *H. contortus*.

Aunque se esperaba que los valores de IgA fueran superiores conforme se incrementa la infección, tal como lo ha indicado Cardia *et al.* (2011), en otro estudio en ovinos de pelo de las cruza Dorset, Finnsheep y Rambouillet se observó que después de la infección con larvas L3 de *H. contortus*, los niveles de IgA en suero llegan a un punto máximo, y después descienden (Bowdridge *et al.*, 2015). Asimismo, factores de nutrición, edad y raza influyen en el incremento de nivel de las proteínas del sistema inmune, tales como las inmunoglobulinas. En cuanto al género del animal se detectaron mayores niveles de IgA en la saliva de las hembras ($P < 0.05$) respecto a los niveles obtenidos en los machos. Mientras que la respuesta en mucosa y suero no

mostraron diferencias entre sexos ($P < 0.05$) (Cuadro 4), que coincide con lo registrado por Hohenhaus *et al.* (1995), quienes no observaron diferencias significativas en la respuesta de IgG, contra *T. colubriformis* y *H. contortus* en hembras y machos.

Correlaciones entre variables parasitológicas, inmunológicas y de salud

El volumen celular aglomerado (VCA) se correlacionó de manera positiva con la proteína plasmática ($r = 0.36$) y de manera negativa con el HPG ($r = -0.36$), el número de *H. contortus* ($r = -0.50$) y con el total de parásitos ($r = -0.38$). Por otra parte el HPG se correlacionó de manera positiva con el conteo de *H. contortus* y de *T. colubriformis*, así como con el total de parásitos adultos ($r = 0.4$). Estas correlaciones fueron de igual tendencia pero más bajas que las indicadas por Amarante *et al.* (1999) quienes reportan una correlación de 0.7 en corderos nativos de Florida y también por Bricarello *et al.* (2004). Se observó una correlación positiva en los niveles de IgA presentes en mucus de abomaso respecto al nivel de IgA en suero contra *H. contortus* ($r = 0.34$) y también contra *T. colubriformis* ($r = 0.33$). Los valores de IgA en saliva y suero tuvieron con coeficiente de correlación alto ($r = 0.64$).

Cuadro 3. Densidad óptica de IgA contra antígeno crudo de *H. contortus* y *T. colubriformis* en diferentes fluidos corporales.

Fluido corporal	<i>H. contortus</i> *	<i>T. colubriformis</i> **
Mucus de tejido	1.33 ± 0.92^a	0.96 ± 1.00^b
Saliva	0.50 ± 0.50^c	0.27 ± 0.25^d
Suero	0.76 ± 0.67^e	0.16 ± 0.32^f

Letras diferentes en la fila representan diferencias significativas ($P < 0.01$). *en mucus de abomaso, ** en mucus de intestino delgado.

Cuadro 4. Efecto del nivel de infección y género sobre la respuesta de IgA en los fluidos.

Fluido	Nivel de infección (HPG)				Género	
	0	1-640	641-2400	2401-12550	Hembra	Macho
Mabo	0.69 ± 0.21^b	1.59 ± 0.20^a	1.42 ± 0.22^{ab}	1.23 ± 0.26^{ab}	1.53 ± 0.21^a	1.28 ± 0.14^a
Mide	0.97 ± 0.34^a	0.85 ± 0.22^a	0.71 ± 0.21^a	1.32 ± 0.27^a	0.75 ± 0.24^a	0.99 ± 0.15^a
SaHc	0.27 ± 0.07^b	0.64 ± 0.13^a	0.58 ± 0.12^{ab}	0.31 ± 0.07^{ab}	0.89 ± 0.16^a	0.35 ± 0.04^b
SaTc	0.28 ± 0.15^a	0.29 ± 0.05^a	0.23 ± 0.06^a	0.28 ± 0.05^a	0.42 ± 0.08^a	0.20 ± 0.02^b
SuHc	0.69 ± 0.22^{ab}	0.99 ± 0.15^a	0.64 ± 0.15^{ab}	0.49 ± 0.12^b	0.76 ± 0.16^a	0.75 ± 0.10^a
SuTc	0.28 ± 0.01^a	0.20 ± 0.04^a	0.08 ± 0.02^a	0.28 ± 0.20^a	0.06 ± 0.01^a	0.20 ± 0.06^a

Letras diferentes en la fila representan diferencias significativas ($P < 0.01$). Mabo=mucus de abomaso, Mide=mucus de intestino delgado, Sa=Saliva, Su=Sero Hc: *H. contortus*, Tc: *T. colubriformis*.

CONCLUSIONES

Se observó alta variabilidad en los parámetros hematológicos e inmunológicos de los ovinos destinados al abasto. El origen, estado fisiológico y sistema de producción influyeron sobre los valores hematológicos y parasitológicos de los ovinos para abasto. La respuesta inmunológica local de los animales tuvo bajos coeficientes de correlación con los índices parasitológicos.

LITERATURA CITADA

- Amarante A.F.T., Bricarello P.A., Huntley J.F., Mazzolin L.P., Gomes J.C. 2005. Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. *Vet. Parasitol.* 128: 99–107.
- Amarante A.D., Bricarello P.A., Rocha, R.A., Gennari, S.M. 2004. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. *Vet. Parasitol.* 120: 91–106.
- Amarante A.F.T., Craig T.M., Ramsey W.S., Davis S.K., Bazer F.W. 1999. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. *Vet. Parasitol.* 80:311–324.
- Benjamin M.M. 1991. Manual de Patología Clínica en Veterinaria, México D.F.: Limusa. p. 7-20, 87-94.
- Bowdridge S., Zajac A., Notter D. 2013. Hair-type sheep generate an accelerated and longer-lived humoral immune response to *Haemonchus contortus* infection. *Vet. Parasitol.* 196: 172–178.
- Bowdridge S., Zajac A., Notter D. 2015. St. Croix sheep produce a rapid and greater cellular immune response contributing to reduced establishment of *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 208: 204–210.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal. Biochem.* 72: 248–254.
- Bricarello P.A., Gennari S.M., Oliveira-Sequeira T.C.G., Vaz C.M.S.L., De Gonçalves I.G., Echevarria F.A.M. 2004. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Crioula Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. *Small Rumin. Res.* 51: 75–83
- Cardia D.F.F., Rocha-Olivera R.A., Rsumeni M.H., Amarante A.F.T. 2011. Immune response and performance of growing Santa Ines lambs to artificial *Trichostrongylus colubriformis* infections. *Vet. Parasitol.* 182: 248–258.
- Dawkins H.J.S., Windon R.G., Eagleson G.K. 1989. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *Intern. J. Parasitol.* 19(2): 199–205.
- Dominik S. 2005. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in cheep: a review. *Genetics Selection and Evolution* 37 Suppl 1: S83–96.
- Esteban-Andrés D., González-Garduño R., Garduza-Arias G., Ojeda-Robertos N.F., Reyes-Montes F., Gutiérrez-Cruz S. 2013. Desarrollo de resistencia a nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo desafiados con diferentes niveles de infección. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 60 (III): 169–181.
- González G.R., Córdoba P.C., Torres H.G., Mendoza G.P., Arece G.J. 2011. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Vet. Méx.* 42(2): 125–135.
- González-Garduño R., Mendoza-de Gives P., Torres-Hernández G. 2013. Variability in the fecal egg count and the parasitic burden of hair sheep after grazing in nematode infected paddocks. *Pesquisa Vet. Bras.* 33(4): 469–475.
- Hohenhaus M.A., East I.J., Eisemann C.H., Pearson L.D., Douch P.G.C., Green R.S., Outteridge P.M. 1995. Variation in immune responsiveness of sheep to the antigens of intestinal nematodes and blowfly larvae. *Intern. J. Parasitol.* 25(5): 629–636.
- López Ruvalcaba O.A., González Garduño R., Osorio Arce M.M., Aranda Ibañez E., Díaz Rivera P. 2013. Cargas y especies prevalentes de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo destinados al abasto. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 4(2): 223–234.
- Luengo J., Godoy L., Aros C., García G., Gómez L. 1991. Determinación de la edad según características morfológicas de los incisivos de ovinos desde el nacimiento hasta los 5,5 años. *Avances en Cienc. Vet.* 6(2).
- Martínez-Valladares M., Vara-Del Río M.P., Cruz-Rojo M.A., Rojo-Vázquez F.A. 2005. Genetic resistance to *Teladorsagia circumcincta*: IgA and parameters at slaughter in Churra sheep. *Parasite immunol.* 27(6): 213.
- Morteo-Gómez R., González-Garduño R., Torres-Hernández G., Nuncio-Ochoa G., Becerril- Pérez C., Gallegos-Sánchez J., Aranda-Ibañez E. 2004. Efecto de la variación fenotípica en la resistencia de corderos Pelibuey a la infestación con nematodos gastrointestinales. *Agrociencia*, 38(4): 395–404.
- Papadopoulos E. 2008. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Small Rumin. Res.* 76: 99–103.
- Prada J.C., Matthews L., Mair C., Stefan T., Stear M.J. 2014. The transfer of IgA from mucus to plasma and the implications for diagnosis and control of nematode infections. *Parasitol.* 141: 875–879.
- Rialch A., Vatsya S., Kumar R.R. 2013. Detection of benzimidazole resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats of subHimalyan region of northern India using different tests. *Vet. Parasitol.* 198(3): 312–318.
- Rocha R., Bricarello P., Silva M., Houdijk J.G.M., Almeida F.A., Cardia D.F.F., Amarante A.F.T.D. 2011. Influence of protein supplementation during late pregnancy and lactation on the resistance of Santa Ines and Ile de France ewes to *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 181: 229–238.
- SAS Institute Inc., 2004. SAS/STAT® User's Guide, Version 9.2, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shaw R.J., Morris C.A., Wheler M., Tate M., Sutherland I.A. 2012. Salivary IgA: A suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. *Vet. Parasitol.* 186: 109–117.
- Thienpont D., Rochette F., Vanparijs O.F.J. 1986. Diagnóstico de las Helminthiasis por Medio del Exámen Coprológico. Janssen Research Foundation, Beerse, Bélgica, Pp. 19–43.
- Torres-Acosta J.F.J., Hoste H. 2008. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 77: 159–173.