

Análisis de diversos parámetros hematológicos y parasitológicos en una infección experimental con *Teladorsagia circumcincta* en cabras de la agrupación caprina canaria

J.F. González; J.M. Molina; E. Rodríguez-Ponce; M.M. Conde de Felipe; A. Ruiz.

Dpto. Patología Animal. Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. (España).

Analysis On Some Haematological and Parasitological Parameters In *Teladorsagia circumcincta* Infected Goats

Palabras clave: *Teladorsagia circumcincta*; Inmunidad; Cabras; Nematoda.
Keys words: *Teladorsagia circumcincta*; Immunity; Goats; Nematoda.

RESUMEN: Con el propósito de reproducir infecciones subclínicas similares a las que se observan en condiciones naturales en la isla de Gran Canaria, se inocularon cabras con L3 infestantes de *Teladorsagia circumcincta*. Los animales fueron posteriormente reinfestados con el fin de evaluar el efecto protector de dicha exposición previa. La eosinofilia sólo se detectó al exponer a las cabras a 20000 L3, sin que se correlacionara con un estado de protección. Los resultados mostraron que la infestación con bajas cargas parasitarias de *T. circumcincta* no fueron capaces de inducir una respuesta protectora a la reinfección, de acuerdo con los recuentos fecales de huevos y de vermes maduros e inmaduros.

SUMMARY: In order to reproduce a subclinical infection similar to those observed in natural conditions, goats from Grand Canary Islands were inoculated with infective L3 *Teladorsagia circumcincta*. Animals were then challenged to evaluate the protective effect of the previous exposure to the parasite. Eosinophilia was only detected in animals inoculated with 20000 L3, but any correlation was observed with a protective status. The results showed that infections with a low parasitic burdens of *T. circumcincta* were unable to induce a protective response to reinfection according to faecal egg and mature / immature worms counts.

Introducción

La especie caprina juega un papel preponderante dentro de la cabaña ganadera de las islas Canarias, de ahí el interés que suscita desde un punto de vista económico y sanitario. Dentro de los distintos agentes patógenos que afectan a las cabras destacan los parásitos, y dentro de éstos, por su elevada prevalencia, el nematodo abomasal *Teladorsagia circumcincta*¹⁵. Este nematodo está considerado como uno de los parásitos más importantes de los

rumiantes, por las pérdidas económicas que ocasiona en todo el mundo²⁷.

Tratando de recopilar información sobre estas nematodosis del ganado caprino, que permitan instaurar medidas que reduzcan sus efectos negativos sobre la producción de esta especie se procedió a inocular experimentalmente a cabras de la agrupación caprina canaria tratando de reproducir infestaciones con cargas parasitarias bajas, similares a las observadas en la isla de Gran Canaria¹⁵. A lo largo del estudio se consideraron parámetros tales como el rit-

mo y número de huevos eliminados, recuento de vermes adultos y formas larvianas en abomaso y de eosinófilos en sangre periférica. Con todo ello, se pretende analizar la utilidad de estos parámetros como indicadores de carga parasitaria en esas circunstancias, y estudiar el efecto sobre los mismos al someter a los animales a reinfestaciones.

Material y Métodos

Animales

Se han utilizado un total de 20 cabritos de la Agrupación Caprina Canaria, que en el momento de su adquisición contaban con una semana de vida. Los animales fueron alojados en instalaciones desinfectadas convenientemente, situadas en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y fueron mantenidos en condiciones libres de nematodos desde su llegada hasta el momento en el que se inició la experiencia.

Una vez finalizado el periodo de lactancia artificial, los cabritos fueron alimentados con piensos comerciales de inicio. Posteriormente se fue incorporando maíz y alfalfa deshidratada progresivamente hasta sustituir completamente el pienso de inicio.

Tras la ubicación de los animales, y antes de iniciar la fase experimental, se les realizó una serie de controles para determinar su estado sanitario desde un punto de vista parasitológico. Así se llevó a cabo un estudio coproló-

gico mediante técnicas de concentración (flotación en solución saturada de cloruro sódico y sedimentación formol-éter)^{5,10}, observándose la presencia de ooquistes de *Eimeria* spp. A tenor de estos resultados los animales fueron tratados con Amprolio (AMPROL 20% MSD-AGVET) durante seis días a una dosis de 1 gr. / 20 kpv.

Obtención de L3 de *Teladorsagia circumcincta*

La cepa de *T. circumcincta* utilizada en el desarrollo de esta experiencia fue cedida por la Dra. McKeand del Departamento de Parasitología Veterinaria de la Universidad de Glasgow. Así mismo y durante la segunda fase del estudio también se utilizaron L3 remitidas por el Dr. Alunda de la Facultad de Veterinaria de Madrid. A partir de éstas, las L3s necesarias para el desarrollo de la experiencia fueron obtenidas a partir de 2 donantes, cabras adultas de la Agrupación Caprina Canaria libres de nematodos.

Diseño experimental

Este trabajo se dividió en dos fases. En la primera de ellas se realizó una inoculación con 2000 L3 de *T. circumcincta* semanales vía intraruminal durante 5 semanas consecutivas a 10 cabras (lote A), manteniendo 10 animales sin inocular como testigos (lote B). Los animales de cada lote se mantuvieron aislados entre sí, para evitar la contaminación entre lotes. Con ello se trató de reproducir infestaciones con cargas parasitarias de *T. circumcincta* similares a las observadas en nuestro entorno¹⁵. Esta fase se prolongó desde la semana 0 de la experiencia hasta la semana 17^a, momento en el que se procede a sacrificar a 5 animales del lote A (lote A1).

La segunda fase del experimento comenzó la semana 17^a. En esta primera semana de esta segunda fase, los 5 cabritos restantes del lote A (lote A2), así como los del lote B fueron tratados con clorhidrato de levamisol (7.5 mg / k p.v.). En la semana 23^a, los animales del lote A2 (reinfestación) y 5 animales del lote B (lote B1) fueron inoculados intraruminalmente con 20000 L3 de *T. circumcincta* en

una sola dosis. Los 5 animales restantes del lote B (lote B2) quedaron sin inocular, manteniéndose como testigo. El estudio finalizó con el sacrificio de todos los animales la semana 32^a del estudio, por tanto, nueve semanas después de la segunda inoculación.

Análisis coprológicos

Semanalmente se procedió a la recogida de heces directamente del recto de los animales. La concentración de huevos de nematodos en dichas heces se estimó por el método de McMaster modificado (Paracount-EPGTM). Los recuentos se realizaron por triplicado para cada animal, obteniéndose una media de huevos / animal / gramo de heces^{5,12,21}.

Eosinófilos en sangre periférica

El recuento de eosinófilos en sangre periférica se realizó semanalmente a cada animal, a partir del recuento de leucocitos totales (para lo que se empleó el contador hematológico Sysmex F-800- TOA instrument) y del recuento diferencial, realizado sobre frotis teñidos mediante un método Panóptico Rápido (QCA) en los que se contaron 200 leucocitos.

Recogida de vermes maduros e inmaduros del abomaso

El sacrificio de los animales se realizó mediante inyección en la vena yugular de Tiopentotal (Tiobarbital 1 g), tras lo cual se les practicó una necropsia reglada, observando macroscópicamente todos los órganos, tejidos y aparatos.

Tras el sacrificio, el abomaso se separó del resto del aparato digestivo (tras ligar el duodeno y el esófago) para realizar los lavados gástricos. La mucosa del abomaso se lavó intensamente con 2 litros de agua destilada. Del lavado se recogió una alícuota de 400 ml, que una vez fijada con formaldehído sirvió para estimar el número de vermes adultos presentes en el abomaso en el momento del sacrificio.

El recuento de vermes inmaduros se obtuvo tras realizar la digestión de la mucosa gástrica. Para ello, se procedió al raspado de la totalidad de la mucosa del abomaso sometiendo a una di-

gestión péptica. La muestra de mucosa se mantuvo en agitación durante 5-6 horas en el líquido de digestión, (obtenido al añadir 8 g de pepsina, 20 ml de ácido clorhídrico concentrado y 23 ml de sal común a 640 ml de agua destilada). Se tomaron alícuotas de 10 ml, y a partir de éstas, se estimó el número de vermes inmaduros presentes en la mucosa del abomaso¹².

Resultados

Recuentos de vermes maduros e inmaduros del abomaso

Vermes maduros

Al término de las primeras 17 semanas del experimento se sacrificaron 5 animales pertenecientes al grupo de inoculados semanalmente con 2000 L3 de *T. circumcincta* (lote A1). El promedio de vermes adultos observados en los abomasos fue de 150 ± 87 vermes / animal, siendo el rango de estos de 60 a 275 vermes / animal.

La segunda fase de la experiencia se inició la semana 17 al desparasitar a todos los animales con clorhidrato de levamisol (7.5 mg / Kg pv sc). Posteriormente, la semana 23^a, se inocularon 10 animales con una dosis única de 20000 L3 de *T. circumcincta* vía intraruminal. Cinco de estos animales, habían sido inoculados en la primera fase del experimento (lote A2 -reinfestado-), mientras que los otros cinco se habían mantenido anteriormente como testigos (lote B1). Otros cinco animales no se inocularon y sirvieron como controles (lote B2). Todos los animales se sacrificaron la semana 32^a del estudio, y se realizaron lavados abomasales a fin de conocer la carga de vermes adultos. El promedio de vermes encontrado en el lote A2 (reinfestado) fue de 1240 ± 634 vermes / animal, mientras que en el lote primoinoculado en esta segunda fase, lote B1, el promedio fue de 1205 ± 1192 . Los rangos observados fueron 1740-185 y 2580-455 vermes / animal respectivamente.

Durante esta segunda fase de la experiencia, uno de los animales del lote A2, presentó un recuento de vermes muy inferior al resto de los animales de

su grupo, con tan sólo 185 adultos. Si descartamos este animal, el promedio de este lote fue de 1504 vermes/animal, y la desviación estándar de tan sólo ± 269 . Algo similar ocurrió en el lote B1. También un animal presentó un recuento mucho mayor que el resto de los animales de este grupo. Sin este animal, el promedio del lote B1 sería de 517 vermes/animal, y la varianza de ± 88 . Si bien el lote reinfestado presentó un valor medio de vermes mayor respecto a lote B1 (infestado sólo en la segunda fase del experimento), no se detectan diferencias significativas consecuentes a la infestación previa. En el lote B2, que incluía animales testigos que no habían sido inoculados en ningún momento en la experiencia, no se recogieron vermes tras realizar los lavados de abomaso.

Vermes inmaduros

Tras la digestión de la mucosa, se procedió al recuento de formas larvianas inmaduras. De los 5 animales correspondientes al lote A1 (sacrificados a las 17 semanas del experimento) sólo se encontraron larvas en 2 animales, uno de ellos mostró un recuento de 0.16 larvas / gr mucosa, y el otro de 0.44 larvas / gr de mucosa.

Por su parte, en el lote A2 (reinfestado), tras el sacrificio, también se encontraron larvas en 2 animales, con una concentración de 0.78 larvas / gr mucosa y de 2.8 larvas / gr de mucosa.

Igualmente dos animales del lote B1 (primoinoculado en la 2ª fase del estudio) mostraron también larvas en la mucosa del abomaso, con una concentración de 0.2 y de 0.67 larvas / gr de mucosa.

Recuentos fecales de huevos

En el lote A (inoculado durante la primera fase del estudio), el periodo prepatente fue de tres semanas para 6 / 10 animales y de 4 semanas para 2 animales, de 5 semanas para otro. Así mismo, uno de los animales presentó un periodo prepatente más prolongado (7 semanas). Los recuentos fecales de huevos mantuvieron una tendencia a aumentar su número desde la semana tercera postinoculación hasta la novena, momento en el que alcanzaron

su valor máximo. A partir de entonces, este parámetro comenzó a decrecer progresivamente hasta la semana 17º, (con un pequeño repunte las semanas 12ª y 16ª), momento en la que se sacrificaron cinco de los animales y se desparasitaron los restantes integrantes de este lote (gráfico 1).

La segunda fase del experimento se inició con la inoculación de 20000 L3 de *T. circumcincta* a cinco animales inoculados en la primera etapa del experimento (lote A2) y otros cinco animales no inoculados, que pertenecieron en la primera etapa al lote testigo (lote B1). Finalmente, otros cinco animales no fueron inoculados y se mantuvieron como controles de esta segunda inoculación (lote B2). El periodo de prepatencia para el lote A2 (reinoculado) fue de 3 semanas, mientras que para el lote B1 (primoinfestado) fue de 4 semanas. Si se considera cada animal individualmente dentro del lote A2, dos animales mostraron un periodo de prepatencia de 3 semanas, otros tres de cuatro semanas y un último animal en el que dicho periodo se prolonga hasta la sexta semana. Por su parte, en el lote B1 el periodo de prepatencia oscila entre las 4 semanas y las 7 semanas. A partir de entonces, los recuentos fecales de huevos van en aumento en el lote A2 hasta el momento del sacrificio la semana 31ª de la experiencia, donde alcanza su valor máximo. Algo similar

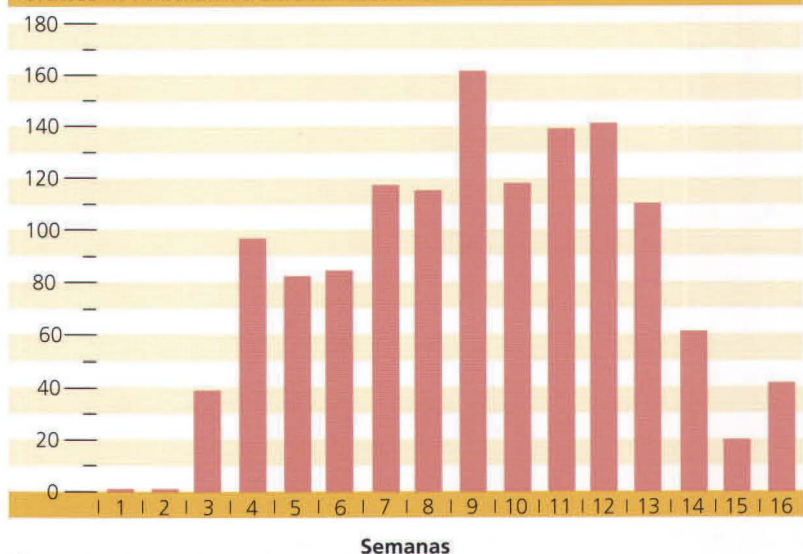
sucede con el lote B1, aunque en este caso, los recuentos de huevos fecales son algo menores, sin que existan diferencias significativas entre ambos grupos ($p = 0.09$) (gráfico 2).

Recuento de eosinófilos en sangre periférica

Durante la primera etapa del experimento, no se encontraron diferencias significativas entre los animales inoculados y los controles, aún a pesar de que el valor medio de los eosinófilos en el grupo de individuos inoculados fue superior durante las primeras 12 semanas (gráfico 3).

Sin embargo, durante la reinoculación, donde la carga parasitaria fue más elevada, si se encontraron diferencias entre los animales inoculados y los testigos. El lote A2 (reinoculado), presentó un recuento de eosinófilos en sangre periférica mayor que el lote B2 (testigo), primera semana p. i. ($p = 0.008$). El lote primoinfestado (B1) durante esta segunda fase de la experiencia, también tiene un mayor número de eosinófilos que el testigo, pero no alcanza significación estadística hasta la segunda semana p. i. ($p = 0.018$), con lo que esta segunda semana, los dos lotes inoculados tienen diferencias significativas respecto al lote testigo (el lote A2, también tiene un mayor número de eosinófilos en sangre periférica con una significación de

Gráfico 1. PRIMOIINFECCIÓN. Recuento de huevos



▲ Representación de los recuentos fecales de huevos del lote A durante la primoinfección (2000 L3 / 5 semanas consecutivas)

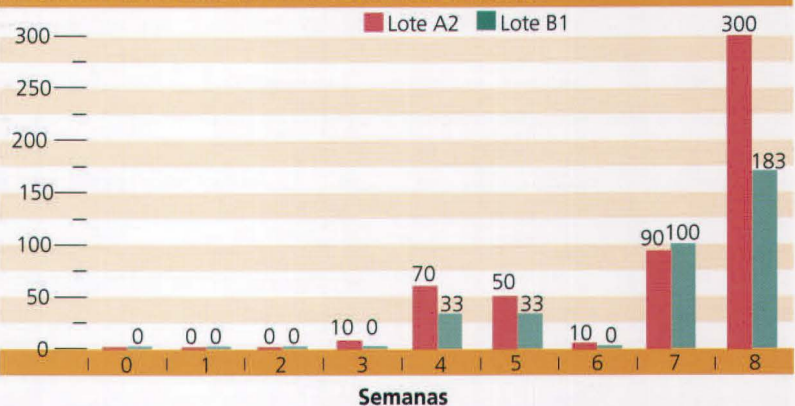
$p = 0.04$). La semana siguiente (tercera post-inoculación), aunque los dos lotes inoculados tiene mayores recuentos de eosinófilos que el testigo, sólo el lote A2 (reinfestado) alcanza significación estadística ($p = 0.005$). Finalmente, la semana siguiente (cuarta postinoculación), ya sólo perdura con respuesta significativa respecto al testigo, el lote reinfestado ($p = 0.002$). A partir de entonces, los recuentos de eosinófilos se homogenizan en los tres grupos y dejan de observarse diferencias que sean de interés desde un punto de vista estadístico (gráfico 4).

Discusión

La ausencia de diferencias significativas en los recuentos de vermes al término de la segunda etapa de la experiencia entre los lotes A2 (reinoculados) y B1 (primoinoculados), parece evidenciar que la exposición previa a bajas cargas parasitarias similares a las que se observan en condiciones naturales en el ganado caprino de Gran Canaria, no generan respuestas que induzcan una protección frente a la reinfección. Es probable, que una respuesta inmunitaria capaz de provocar una reducción en el número de vermes, requiera de un umbral mínimo de exposición, tal y como plantean algunos autores²⁶. Esto explicaría que diversos experimentos sobre rumiantes inoculados con *T. circumcincta* y *O. ostertagi*, los animales muestran distintos grados de resistencia a la reinfección^{25,11,17}. Otros trabajos también encuentran que la exposición previa de ovejas a *T. circumcincta* no induce cambios significativos en los recuentos de vermes en el abomaso entre animales primoinfectados y reinfestados²⁵, algo parecido se ha demostrado en algunas experiencias en bovinos con *Ostertagia ostertagi*¹¹. Por el contrario, otras experiencias similares realizadas en bovino con *O. ostertagi*, si encuentran correlaciones inversas entre el nivel de exposición y el recuento de vermes¹⁷.

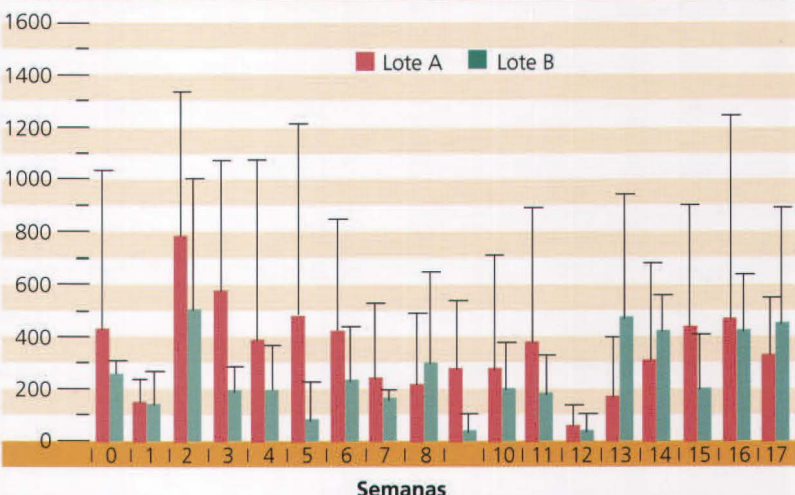
El secuestro larvario en la mucosa gastrointestinal es un fenómeno bien conocido, asociado a un incremento de resistencia a *O. ostertagi*¹⁴, *Haemonchus*

Gráfico 2. REINOCULACIÓN. Recuentos de huevos



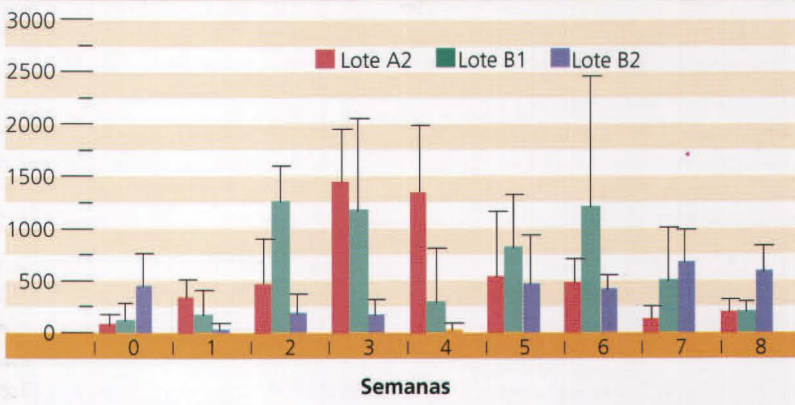
▲ Representación de los recuentos fecales de huevos del lote A2 y lote B1 durante la segunda fase del experimento (20000 L3).

Gráfico 3. EOSINÓFILOS. Primoinoculación



▲ Recuentos de eosinófilos en sangre periférica en los lotes A (inoculado) y B (no inoculado) durante la primera etapa del experimento (5000 L3 / 5 semanas consecutivas).

Gráfico 4. EOSINÓFILOS. Reinoculación



▲ Recuentos de eosinófilos en sangre periférica para los lotes A2 (reinoculado) y B1 (primoinoculados) y lote B2 (testigo) durante la segunda etapa del experimento (20000 L3).

*placei*¹⁸ en bóvinos y a *Haemonchus contortus*², *T. circumcincta*²⁰, *Trichostrongylus colubriformis*³ y *Trichostrongylus vitrinus*⁹ en ovinos. La hipo-

biosis también se asocia a cambios estacionales, a la densidad de nematodos y a la cepa del parásito^{8,9,14}. En estos casos, el mantenimiento de cargas de nemato-

dos podrían tener su origen en el reemplazo de vermes adultos por las larvas hipobioticas alojadas en la mucosa gastrointestinal¹. Sin embargo, el desarrollo de resistencia inmune tras infecciones previas, determinan un incremento de formas inmaduras que no llegan a movilizarse, dando lugar a la reducción progresiva del parásito como se ha observado en bovinos inmunes al nematodo gástrico *O. ostertagi*^{11,16}.

Algunos indicios de esta respuesta hemos observado en nuestro estudio. Así, en los animales reinfestados se observa un número de formas inmaduras ligeramente superior en animales reinfestados, pero sin que llegaran a ser significativas respecto a los animales que no estuvieron previamente infectados. De igual modo, este ligero acúmulo de formas inmaduras en la mucosa gástrica tampoco determinó una reducción de formas adultas en la luz del abomaso, lo que tal vez se deba, como ya indicábamos, a que la intensidad de la infección al reproducir condiciones próximas a las naturales, no fue capaz de desarrollar esta respuesta protectora de forma consistente¹⁶.

Tampoco la exposición inicial al nematodo provocó diferencias en los recuentos fecales de huevos que pudieran atribuirse a un estado de mayor resistencia. Antes bien, el periodo de prepatencia se acortó en los animales reinfestados e incluso los recuentos fecales de huevos en heces fueron algo mayores en este grupo, si bien esas diferencias entre lotes no llegaron a ser significativas. En cualquier caso, los resultados que se recogen en la bibliografía en inoculaciones similares en rumiantes son bastante contradictorios. Así, por ejemplo, Sutherland y cols. (1999)²⁵, obtienen resultados similares a los presentados en este trabajo, mientras que por el contrario, Stear y cols., (1995c)²² encuentran una reducción en los recuentos fecales de huevos en individuos previamente expuestos a *T. circumcincta*, lo que también podría guardar relación con el grado de infección al que se encuentran sometidos los animales en cada caso.

La ausencia de eosinofilia en los animales inoculados durante a primera fase de la experiencia es un hallazgo poco frecuente en infestaciones experi-

mentales con *T. circumcincta* en pequeños rumiantes, aunque otros autores también la han documentado^{25,28}. Comúnmente se producen eosinofilia moderadas durante las infestaciones primarias de nematodos en rumiantes^{1,4,6,7,24}. Sin embargo, y aún aceptando que esta es la situación más frecuente, diversos autores en ocasiones no han encontrado esta incremento de eosinófilos en sangre periférica, lo que puede plantear dudas sobre su utilidad como método para evaluar la exposición del hospedador al nematodo^{25,28}. Probablemente, la ausencia de eosinofilia durante esta primera fase de la experiencia se deba a que el número de larvas inoculadas en este trabajo fue menor que las empleadas por los otros autores, además de los amplios rangos fisiológicos con los que se trabaja en esta especie.

Sin embargo, durante la segunda fase del experimento, al recibir una dosis infectante más elevada (20000 L₃), los animales pertenecientes tanto al grupo de animales primoinoculados como los reinoculados mostraron incrementos significativos en el número de eosinófilos en sangre periférica respecto al lote B2 (testigo). Esta respuesta fue más precoz y más duradera en los individuos reinfestados, lo que parece indicar la existencia de una respuesta inmunitaria. Esta respuesta se ha atribuido a una liberación específica de IL-5, una citocina T dependiente que estimula el incremento de eosinófilos tanto a nivel tisular como en sangre periférica¹³. Este tipo de respuesta eosinofílica más precoz y duradera en ovinos reinoculados con *T. circumcincta* ha sido descrita en otras experiencias²².

En nuestro estudio, aún a pesar de que se desarrolla una respuesta eosinofílica más duradera y precoz en los animales inmunizados previamente, ésta respuesta no se asocia con una reducción en la carga de nematodos en el abomaso, por lo que, al menos estas infecciones con cargas parasitarias bajas a las que se expusieron los cabritos, resultan insuficientes para inducir una respuesta protectora eficaz, ni tampoco supone una menor capacidad de establecimiento de las larvas en la mucosa. Sin embargo, parece evidente que

han sido capaces de desencadenar una respuesta de recuerdo, que podría originar una reacción de hipersensibilidad a nivel local.

Conclusiones

- 1.- La inoculación intrarruminal de 2000 L₃ de *Teladorsagia circumcincta* durante 5 semanas consecutivas determina en ganado caprino infestaciones subclínicas con un periodo prepatente en torno a las 4 semanas y cargas parasitarias bajas similares a las que se observan en condiciones naturales en animales de la isla de G. Canaria.
- 2.- La exposición a cargas parasitarias bajas de *T. circumcincta* en ganado caprino no induce resistencia frente a la reinfestación con 20000 L₃ del nematodo, a tenor de los resultados obtenidos en la evolución de los recuentos de huevos, de formas inmaduras en mucosa gástrica y vermes adultos.
- 3.- La respuesta eosinofílica típica de las infecciones por nematodos gastrointestinales sólo se induce mediante la inoculación con 20000 L₃ de *T. circumcincta*, siendo esta respuesta más precoz y duradera en animales infestados previamente, sin que los niveles de eosinofilia alcanzados estén relacionados con una protección frente a la reinfestación.

Bibliografía

- 1.- Balic, A.; Bowles, V. M. and Meeusen, E. N. T. (2000): The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Adv. Parasitol.* 45: 181-241.
- 2.- Barger, I. A.; Lejambre, L. F.; Georgi, J. R. and Davies, H. I. (1985): Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep exposed to continuous infection. *Int. J. Parasitol.* 15: 529-533.
- 3.- Barnes, E. H. and Dobson, R. J. (1993): Persistence of acquired immunity to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep after termination of infection. *Int. J. Parasitol.* 23: 1019-1026.

- 4.- Buddle, B. M.; Jowett, G.; Green, R. S.; Douch, P. G. C. and Risdon, P. L. (1992): Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *Int. J. Parasitol.* 22: 955-960.
- 5.- Colville J (1991): Common Laboratory Procedures for Diagnosing Parasitism. *En* Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians. Paul W. Pratt. *American Veterinary Publications, Inc.* California, USA: 7-50.
- 6.- Dawkins, H. J. S.; Windon, R. G. and Eagleson, G. K. (1989): Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 19: 199-205.
- 7.- Dobson, R. J.; Barnes, E. H. and Windon, R. G. (1992): Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* in single and concurrent infections. *Int. J. Parasitol.* 22: 997-1004.
- 8.- Dunsmore, J. D. (1963): Effect of removal of an adult population of *Ostertagia* from sheep on concurrently existing arrested larvae. *Aust. Vet. J.* 39: 459-463.
- 9.- Eysker, M. (1997): Some aspects of inhibited development of trichostrongylids in ruminants. *Vet. Parasitol.* 72: 265-272; discusión: 272-283.
- 10.- Hendrix, CM (1999): Pruebas de laboratorio más comunes para el diagnóstico del parasitismo. *En* Diagnóstico Parasitológico Veterinario. CM Hendrix. Harcourt Brace. Madrid, España: 255-263.
- 11.- Hilderson, H.; Vercruyssen, J.; De Graaf, D. C.; Bastiaensen, P.; Franssen, J. and Berghen, P. (1993): The presence of an early L₄ larvae population in relation to the immune response of calves against *Ostertagia ostertagi*. *Vet. Parasitol.* 47: 255-266.
- 12.- MAFF (1989): Helminthology. London: Her Majesty's Stationery Office. Reino Unido: 1-68.
- 13.- Meeusen, E. N. T. and Balic, A. (1999): Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites?. *Parasitology Today* 16 (3): 95-101.
- 14.- Michel, J. F. (1963): The phenomena of host resistance and the course of infection of *Ostertagia ostertagi* in calves. *Parasitology.* 53: 63-84.
- 15.- Molina, JM; Gutiérrez, AC; Rodríguez-Ponce, E.; Viera, JA y Hernández, S. (1997): Abomasal nematodes in goats from the subtropical island of Grand Canary. *Vet. Res.* 28: 259-270.
- 16.- Ploeger, H. W.; Kloosterman, A.; Borgsteede, F. H. M. and Eysker, M. (1990): Effect of naturally occurring nematode infections in the first and second grazing season on the growth performance of second-year cattle. *Vet. Parasitol.* 36: 57-70.
- 17.- Ploeger, H. W.; Kloosterman, A. and Rietveld, F. W. (1995): Acquired immunity against *Cooperia* spp. and *Ostertagia* spp. In calves: effect of level of exposure and timing of the midsummer increase. *Vet. Parasitol.* 58: 61-74.
- 18.- Roberts, F. H. S. (1957): Reactions of calves to infestations with the stomach worm *Haemonchus placei*. *Aust. J. Parasitol.* 19(2): 139-168.
- 18.- Seaton, D. S.; Jackson, F.; Smith, W. D. and Angus, K. W. (1989): Development of immunity to incoming radiolabelled larvae continuously infected with *Trichostrongylus vitrinus*. *Research in Veterinary Science.* 46: 22-26.
- 19.- Seaton, D. S.; Jackson, F.; Smith, W. D. and Angus, K. W. (1989): Development of immunity to incoming radiolabelled larvae in lambs continuously infected with *Ostertagia circumcincta*. *Res. Vet. Sci.* 46: 241-246.
- 20.- Sloss, MW; Kemp, RL; Zajac, AM (1994): Veterinary Clinical Parasitology. Sloss MW y Kemp RL. *American Association of Veterinary Parasitologists.* Iowa, USA.
- 21.- Stear, M. J.; Bishop, S. C.; Duncan, J. L.; Mckellar Q. A. and Murray, M. (1995): The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophils counts, and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. *Int. J. Parasitol.*, 25(3): 375-380.
- 22.- Stear, M. J.; Bairden, K.; Bishop, S. C.; Duncan, J. L.; Karimi, S. K.; Mckellar, Q. A. and Murray, M. (1995): Different patterns of faecal egg output following infection of Scottish Blackface lambs with *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.*, 59: 29-38.
- 23.- Stevenson, L. M.; Huntley, J. F.; Smith, W. D. and Jones, D. G. (1994): Local eosinophil- and mast cell-related responses in abomasal nematode infections in lambs. *FEMS-Imm. Med. Micro.* 8: 167-173.
- 24.- Sutherland, I. A.; Brown, A. E.; Green, R. S.; Miller, C. M. and Leathwick, D. M. (1999): The immune response of sheep to larval challenge with *Ostertagia circumcincta* and *O. ostertagi*. *Vet. Parasitol.* 84: 125-135.
- 25.- Vercruyssen, J. and Claerebout, E. (1997): Immunity development against *Ostertagia ostertagi* and other gastrointestinal nematodes in cattle. *Vet. Parasitol.* 72: 309-326.
- 26.- Vercruyssen J; Taraschewski, H; Voigt WP (1988): Parasitic diseases of the alimentary system. *En* Parasitology in Focus. Facts and Trends. Melhorn H ed, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 481-494.
- 27.- Yong, W. K.; Edwards, L. D. and Hucker, D. A. (1985): Peripheral blood white cells responses during concurrent copper deficiency and gastro-intestinal nematodiasis in sheep. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 63: 273-281.
- 28.- Yong, W. K.; Edwards, L. D. and Hucker, D. A. (1985): Peripheral blood white cells responses during concurrent copper deficiency and gastro-intestinal nematodiasis in sheep. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 63: 273-281.