



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA  
POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

## NIVELES ENERGÉTICO-PROTEICOS DE LA DIETA EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA Y PARASITOLÓGICA DE OVINOS CONFINADOS

### TESIS

Que como requisito parcial  
para obtener el grado de

### DOCTOR EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta

**YOEL LÓPEZ LEYVA**

Bajo la supervisión de: Roberto González Garduño, Dr.



Chapingo, Estado de México, febrero 2021



**APROBADA**



**NIVELES ENERGÉTICO-PROTEICOS DE LA DIETA EN LA RESPUESTA  
INMUNOLÓGICA Y PARASITOLÓGICA DE OVINOS CONFINADOS**

Tesis realizada por **YOEL LÓPEZ LEYVA** bajo la supervisión del Comité Asesor  
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener  
el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA**

DIRECTOR:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Roberto González Garduño

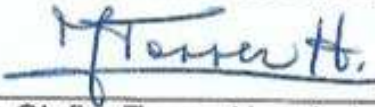
CO-DIRECTOR:

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. Maximino Huerta Bravo

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. Rodolfo Ramírez Valverde

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. Glafiro Torres Hernández

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Javier Arece García

LECTOR EXTERNO:

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. María Eugenia López Arellano

## CONTENIDO

|                                                                                                                                                             |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| LISTA DE CUADROS .....                                                                                                                                      | ii   |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                                                                                      | iii  |
| DEDICATORIA .....                                                                                                                                           | vi   |
| AGRADECIMIENTOS.....                                                                                                                                        | vii  |
| DATOS BIOGRÁFICOS.....                                                                                                                                      | viii |
| RESUMEN GENERAL.....                                                                                                                                        | viii |
| GENERAL ABSTRACT.....                                                                                                                                       | ix   |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....                                                                                                                      | 1    |
| CAPÍTULO 2. PAPEL DE LA ENERGÍA Y LAS PROTEÍNAS DEL ALIMENTO<br>DURANTE LA INFECCIÓN CON NEMATODOS<br>GASTROINTESTINALES EN PEQUEÑOS RUMIANTES: REVISIÓN    | 8    |
| CAPÍTULO 3. HIGH ENERGY LEVELS IN THE DIET REDUCE THE PARASITIC<br>EFFECT OF <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> IN PELIBUEY SHEEP.                                 | 29   |
| CAPÍTULO 4. ESTADO REPRODUCTIVO Y RELACIÓN DE LA ENERGÍA-<br>PROTEÍNA EN PARÁMETROS PARASITOLÓGICOS Y<br>HEMATOLÓGICOS DE OVEJAS PELIBUEY EN PASTOREO ..... | 37   |
| CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN GENERAL .....                                                                                                                         | 59   |

## LISTA DE CUADROS

### CAPÍTULO 3

- Table 1. Ingredients of the diets used in feeding Pelibuey lambs. .... **¡Error! Marcador no definido.**
- Table 2. Main effects and interaction of fecal egg count (FEC), live weight (LW), packed cell volume (PCV), and total plasma protein (TPP) with respect to gender, sampling days, and treatments. **¡Error! Marcador no definido.**
- Table 3. Immunoglobulin percentages in Pelibuey sheep fed two energy and protein levels with respect to a positive control (%) and effect of animal gender. .... **¡Error! Marcador no definido.**

### CAPÍTULO 4.

- Cuadro 1. Ingredientes de las dietas utilizadas en la alimentación de los animales experimentales. .... 42
- Cuadro 2. Efectos simples en las variables respuesta en ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales y alimentados con dos niveles de energía y proteína. .... 44

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2.

Fig. 1 Diagrama de interacción entre nutrición y parásitos gastrointestinales. . 15

Fig. 2. Relación de la respuesta inmune en función de las necesidades energéticas..... 17

Fig. 3. Suplementación proteica y respuesta inmune de animales parasitados.19

### CAPÍTULO 3.

**Fig. 1.** Experimental infections with gastrointestinal nematode larvae, blood and feces sampling in Pelibuey lambs. LW: Live weight. **¡Error! Marcador no definido.**

**Fig. 2.** Effect of diet energy level on nematode fecal egg count in Pelibuey sheep. .... **¡Error! Marcador no definido.**

**Fig. 3.** Packed cell volume (PCV) of Pelibuey lambs a) classified in four experimental groups according to diet energy and protein level. b) principal effect of dietary energy level on PCV. **¡Error! Marcador no definido.**

**Fig. 4.** Effect of dietary energy level on total plasma protein in Pelibuey sheep. .... **¡Error! Marcador no definido.**

**Fig. 5.** Effect of dietary energy level on the live weight of Pelibuey sheep. **¡Error! Marcador no definido.**34

**Fig. 6.** IgG level (%) in response to a crude extract *H. contortus* antigen with respect to a positive control (grazing) in Pelibuey sheep. .... **¡Error! Marcador no definido.**

**Fig. 7.** Effect of sampling days on the performance of IgA, IgG, and IgM in response to a crude extract *H. contortus* (Hc) antigen with respect to a positive control (%) in Pelibuey lambs... **¡Error! Marcador no definido.**

## CAPÍTULO 4.

- Figura 1.** Evaluación del conteo fecal de huevos (A), volumen celular aglomerado (B) y eosinófilos periféricos (C) en ovejas Pelibuey en producción y vacías infectadas con nematodos gastrointestinales de manera natural en pastoreo. .... 45
- Figura 2.** Interacción del nivel de proteínas de la dieta y el estado reproductivo sobre el conteo fecal de huevos (A), el volumen celular aglomerado (B) y los conteos de eosinófilos (C), en ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo. .... 47
- Figura 3.** Interacción del nivel de proteína y de energía de las dietas con el estado reproductivo sobre los conteos fecales de huevos en ovejas Pelibuey infectadas con nematodos gastrointestinales en condiciones de pastoreo. .... 47

## DEDICATORIA

A ti, que supiste guiarme y orientarme en la vida. Que en tiempos duros y difíciles te creciste como gigante para apoyarme y sostenerme; que a golpe de trabajo y sacrificio me llevaste por la senda que traza mi futuro. **A ti madre querida**, que eres la fuerza que impulsa a mi corazón.

A mis hijas Edianys y Elizabeth, mis amores que son mi razón de ser.

A mi esposa Ismely Calzada Caballero, guerrillera de todos los tiempos.

## AGRADECIMIENTOS

A la Alta casa de Estudios, **Universidad Autónoma Chapingo**, Centro de historia, conocimientos y valores.

Al **Posgrado en Producción Animal** y a toda la comunidad, que me acogieron como una familia.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico durante la realización de mis estudios de Doctorado.

A la **Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”**, fuente inagotable de conocimientos

A los Doctores:

**Roberto González Garduño**, por su apoyo incondicional, la paciencia, los regaños oportunos y por ser ejemplo que seguir para todo hombre de ciencia.

**Rodolfo Ramírez Valverde**, por su oportuno apoyo y darme confianza en mis primeros momentos del doctorado.

**Maximino Huerta Bravo**, por forjar en mí una mente de hombre de ciencia y el desarrollo de un razonamiento lógico.

**Glafiro Torres Hernández**, por ser ejemplo de disciplina, organización, puntualidad y sentimiento humano.

**Javier Arece García**, por todo el apoyo y aceptar ser parte de este prestigioso equipo de asesores.

A mis colegas y amigos **Teresa, Rosalba, Marisol y Juan Daniel**, siempre muy atentos conmigo.

A Todas aquellas personas que de forma sencilla y desinteresada pusieron su granito de arena para la realización de este trabajo.

A todos Muchas Gracias.

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

### **Datos personales:**

Nombre: Yoel López Leyva

Nacionalidad: Cubana.

Fecha de nacimiento: 15 de agosto del 1975

Lugar de nacimiento: Calixto García, Holguín, Cuba

Dirección en México: Calle Úrsulo Galván, Colonia Salitrería, Texcoco de Mora, Edo. México, México.

CURP: LOLY750815HNPLY06

Profesión: Médico Veterinario



### **Desarrollo Académico:**

Licenciatura: Doctor en Medicina Veterinaria. Universidad de Granma (1996-2001).

Maestría: Maestro en Pastos y Forrajes. Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Matanzas, Cuba (2002-2004).

Doctorado: Doctorado en Ciencias en Innovación Ganadera. Posgrado en Producción Animal. Universidad Autónoma Chapingo (2017-2020).

## RESUMEN GENERAL

### NIVELES ENERGÉTICO-PROTEICOS DE LA DIETA EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA Y PARASITOLÓGICA DE OVINOS CONFINADOS<sup>1</sup>

Se realizó una revisión de literatura sobre el desequilibrio proteico-energético causado por nematodos gastrointestinales (NGI) en pequeños rumiantes y su relación con la respuesta inmunológica. Se discutió el papel de la suplementación de energía y proteína en el desarrollo de resistencia a NGI. En el primer estudio se evaluó la respuesta parasitológica y la inmunidad humoral de corderos Pelibuey infectados experimentalmente con *Haemonchus contortus*, con el empleo dos niveles de energía y de proteínas en la dieta. Se determinó el conteo fecal de huevos (CFH), el volumen celular aglomerado (VCA), las proteínas plasmáticas totales (PPT) y los niveles de inmunoglobulina (IgA, IgG e IgM). Las dietas altas en energía tuvieron los menores CFH ( $p<0.01$ ) independientemente de los niveles de proteína. El efecto del alto nivel de energía también se observó a través del tiempo, el CFH disminuyó mientras que el VCA y la PPT aumentaron. También se observó el efecto del sexo, donde se obtuvieron niveles más altos de inmunoglobulina en las hembras que en los machos ( $p<0.05$ ). Sin embargo, los niveles de energía y proteína de las dietas no afectaron los niveles de inmunoglobulinas. En un segundo estudio en ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo se evaluó el efecto del estado reproductivo y dos niveles de energía alta (N= 24) y baja (N=24) y proteína alto (N=24) y bajo (N=24) sobre la respuesta parasitológica y hematológica. Se determinó el CFH, VCA y eosinófilos (EOS). Los valores del CFH y VCA, mostraron un mejor comportamiento ( $p<0.05$ ) en los animales vacíos y con alto nivel de proteína en la dieta. La suplementación con niveles altos de proteína mejora la respuesta hematológica y contra parásitos de ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo, mientras que la energía afecta la respuesta inmune parasitológica y humoral de corderos Pelibuey infectados.

**Palabras clave:** Ovinos Pelibuey, nematodos gastrointestinales, estado reproductivo y manejo nutricional

---

<sup>1</sup>Tesis de Doctorado en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Yoel López Leyva

Director: Roberto González Garduño

## GENERAL ABSTRACT

### ENERGY-PROTEIN LEVELS OF THE DIET IN THE IMMUNE AND PARASITOLOGICAL RESPONSE OF CONFINED SHEEP<sup>2</sup>

A literature review was carried out on the protein-energy imbalance caused by gastrointestinal nematodes (GIN) in small ruminants and its relationship with the immune response. The role of energy and protein supplementation to improve the resistance against GIN was discussed. In the first study, the GIN response and humoral immunity of Pelibuey lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* were evaluated, using two levels of energy and protein in sheep's diet. Fecal egg count (FEC), packed cell volume (PCV), total plasma protein (TPP) and immunoglobulin levels (IgA, IgG and IgM) were determined. The high-energy diets had the lowest FECs ( $p < 0.01$ ) regardless of protein levels. The effect of the high energy level was also observed on time, FEC decreased while PCV and TPP increased. The effect of gender was also observed, due to the higher level of immunoglobulins obtained in females compared with sheep males ( $p < 0.05$ ). However, the energy and protein levels of the diets did not affect immunoglobulin levels. In Pelibuey sheep under grazing conditions, the effect of reproductive condition two levels of high (N = 24) and low (N = 24) and high (N = 24) and low (N = 24) energy on the response were evaluated. Parasite and hematological FEC, PCV and eosinophils (EOS) were determined. The FEC and PCV values showed a significant better behavior ( $p < 0.05$ ) in the empty animals and with a high level of protein in the diet. Supplementation with high protein levels improves the parasitological and hematological response of Pelibuey sheep under grazing conditions, while energy affects the parasitological and humoral immune response of infected Pelibuey lambs.

**Key words:** Pelibuey sheep, gastrointestinal nematodes, reproductive status and nutritional management

---

<sup>2</sup>Doctoral Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program in Animal Production, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Yoel López Leyva

Advisor: Roberto González Garduño

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El parasitismo gastrointestinal es uno de los principales problemas que afectan la salud de los rumiantes en pastoreo. Las especies más abundantes de parásitos incluyen a los nematodos gastrointestinales (NGI) entre los que destacan *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis* por su alta prevalencia y patogenicidad (Torres-Acosta et al., 2012) además de *Cooperia curticei* y *Oesophagostomum* spp., los cuales también son abundantes en los climas cálidos. La importancia de estos parásitos se debe a que provocan disminución del comportamiento productivo, reproductivo y ponen en riesgo la vida de los animales al afectar la salud del huésped (Emery, Hunt, & Le Jambre, 2016). Los signos clínicos que se observan con la infección de los NGI incluyen la pérdida de peso, anemia severa, ulceraciones, congestión de la mucosa, engrosamiento de las paredes, focos hemorrágicos e hiperplasia de las glándulas con infiltración de linfocitos y eosinófilos, hasta el deterioro de la condición corporal de los animales e incluso la muerte de los animales con alta susceptibilidad (Idika, Chiejina, Mhomga, Nnadi, & Ngongeh, 2012).

El control de los NGI se ha realizado comúnmente con antihelmínticos, los cuales inicialmente tuvieron alta eficacia, sin embargo, actualmente se cuestiona su utilidad profiláctica y terapéutica, pues los parásitos han desarrollado resistencia a los antihelmínticos (Baltrušis, Halvarsson, & Höglund, 2018; Reyes-Guerrero et al., 2020). En los rumiantes, las principales especies de NGI tienen características genéticas que favorecen los mecanismos de resistencia a estas sustancias químicas (Raisová et al., 2018). La resistencia antihelmíntica se ha definido como la disminución de la eficacia de un compuesto químico contra una población de parásitos que, por lo general, es sensible a esa droga y es de naturaleza genética (Rodríguez, Arece, Olivares, Alemán, & Sánchez, 2015). Varias estrategias se han utilizado para disminuir los efectos de la resistencia antihelmíntica: el uso de hongos nematófagos (Ribeiro & de Araújo, 2014), la selección de genotipos resistentes (González et al., 2008), el uso de plantas con

potencial antiparasitario (Marie-Magdeleine et al., 2020), la aplicación de tratamientos selectivos (Westers et al., 2017), alternativas quimioterapéuticas (Mravčáková et al., 2019), y últimamente inducir la respuesta inmune del huésped con el manejo nutricional (Cruz-Tamayo et al., 2020).

Debido a la baja efectividad en muchos de los productos químicos, la selección de ovinos con alta resistencia natural contra los NGI es importante, sobre todo en las ovejas en lactancia las cuales sufren una reducción en la inmunidad en el periparto, lo que se asocia con una alta fecundidad de las hembras de NGI, trayendo como consecuencia elevada cantidad de huevos eliminados por gramo de heces (HPG) e incrementando la susceptibilidad a otras infecciones (Hamer, McIntyre, Morrison, Jennings, & Robert, 2019). Además, el incremento en el conteo fecal de huevos (CFH) de NGI junto con la depresión inmunológica en ovejas lactantes (González et al., 2017) se asocian con pérdida de peso por el incremento en las necesidades para sostener a su cría, lo que puede conducir a una severa desnutrición y a la muerte de las ovejas y de sus crías debido a que los corderos al no tener inmunidad innata contra NGI se ven expuestos a la infección. Houdijk (2008) indicó que el aumento en la demanda nutricional durante la gestación y en la lactancia, por escasez de nutrientes afecta la expresión de la inmunidad adquirida contra los parásitos, y por lo tanto en una mayor eliminación de huevos.

La respuesta inmune local en la mucosa gástrica es esencial para el desarrollo de resistencia contra NGI (Mihi et al., 2014). La deficiencia de nutrimentos reduce la cantidad y calidad de linfocitos T y B, y también los mecanismos de eliminación de los agentes patógenos, como son los fagocitos y el sistema del complemento (Segurola, Cárdenas & Burgos, 2016). En este sentido, un desequilibrio nutricional afecta la competencia del sistema inmune (Chandra, 1997). Muchos de los componentes del sistema inmune como inmunoglobulinas, mucoproteínas y productos de células inflamatorias son de naturaleza proteica, por lo que se espera que los individuos hagan uso de las fuentes de proteínas, principalmente

en momentos donde se requiere mayor participación del sistema inmunitario (Goldberg, Ciappesoni, DeBarbieri, Rodríguez, & Montossi, 2011).

Se ha mencionado que la relajación periparto e inmunidad están ligadas a las necesidades crecientes de energía y proteína para el crecimiento del feto, así como a cambios hormonales (Muñoz-Guzmán, Cuenca-Verde, Buendía-Jiménez, & Alba-Hurtado, 2019). La alimentación balanceada contribuye a reducir la magnitud o duración del alza periparto, la cual es el incremento en el CFH alrededor del parto, al mejorar la respuesta inmune de las ovejas (Werne et al., 2013). La suplementación proteica puede ser una medida de reducción del CFH específicamente en las etapas críticas del último tercio de gestación y lactancia y junto con los suplementos energéticos mejoran la respuesta inmune (Goldger, Ciappesoni, & Aguilar, 2012), así también se mejora la condición corporal de las ovejas en el período periparto (Houdijk, Jackson, Coop, & Kyriazakis, 2006). De lo anterior se pudiera pensar que, en dependencia del estado reproductivo y un manejo nutricional de las ovejas en pastoreo, se tendrán efectos en la respuesta contra los NGI. En el caso de corderos, se ha sugerido la estabulación como una alternativa para reducir la infección con NGI. Sin embargo, cuando se estabulan corderos infectados y existe resistencia antihelmíntica, no se conocen los daños ocasionados por la infección. Por tanto, una duda que surge es si los animales estabulados con una alimentación balanceada pueden incrementar la respuesta inmune lo que contribuye a modular la infección con NGI sin aplicar antihelmíntico.

## Hipótesis

Altos niveles de energía y de proteína en comparación con los niveles mínimos recomendados por el NRC incrementan la respuesta hematológica e inmunológica en corderos en crecimiento y en ovejas durante la lactancia.

## Objetivos

### Objetivo general

Determinar el efecto de diferentes niveles de energía y proteína en la respuesta parasitológica, hematológica e inmunológica de corderos confinados y ovejas durante la gestación y lactancia en pastoreo.

### Objetivos específicos

1. Evaluar el nivel de energía y proteína en las respuesta parasitológica, hematológica e inmunológica de corderos en confinamiento.
2. Evaluar el nivel de energía y proteína en la respuesta parasitológica y hematológica durante el parto de ovejas Pelibuey en pastoreo.

El trabajo incluye cuatro capítulos adicionales. En el **Capítulo 2** se presenta una revisión de literatura sobre las consecuencias del parasitismo gastrointestinal por *Haemonchus contortus* en ovinos, la participación del metabolismo energético y proteico en la respuesta inmune y las causas del parasitismo en el desbalance nutricional del animal. En el **Capítulo 3** se presentan los resultados de la evaluación de dietas con dos niveles de energía y de proteína en las respuestas parasitológica, hematológica e inmunológica de corderos Pelibuey en confinamiento infectados experimentalmente con larvas infectivas (L<sub>3</sub>) de *H. contortus*. En el **Capítulo 4** se presentan los resultados de la evaluación de dietas con dos niveles de energía y proteína, en las respuestas parasitológica y hematológica de ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo e infectadas naturalmente con NGI. El **Capítulo 5** lo conforma una discusión general del

trabajo de tesis, abordando los resultados más relevantes de cada uno de los estudios realizados.

### Literatura citada

- Baltrušis, O., Halvarsson, P., & Höglund, J. (2018). Exploring benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* by next generation sequencing and droplet digital PCR. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 8, 411-419, doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.09.003.
- Chandra, R. K. (1997). La nutrición y el sistema inmunológico: una introducción. *Revista Estadounidense de Nutrición Clínica*, 66, 460S - 463S.
- Cruz-Tamayo, A., González-Garduño, R., Torres-Hernández, G., Becerril-Pérez, C., Hernández-Mendo, O., Ramírez-Bribiesca, E., & ... Hernández-Rueda, E. (2020). Artificial *Haemonchus contortus* infection as a strategy to induce protective immune response to natural infection in Pelibuey lambs. *Journal of Helminthology*, 94, e181, 1–8, doi.org/ 10.1017/S0022149X20000656.
- Emery, L. D., Hunt, W. P., & Le Jambre, F. L. (2016). *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology*, 46, 755–769, doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.07.001.
- Goldberg, V., Ciappesoni, G., & Aguilar I. (2012). Genetic parameters for nematode resistance in periparturient ewes and post- weaning lambs in Uruguayan Merino Sheep. *Livestock Science*, 147, 181-187.
- Goldberg, V., Ciappesoni, G., DeBarbieri, I., Rodríguez, A., & Montossi, F. (2011). Factores no genéticos que afectan la resistencia a parásitos gastrointestinales en Merino uruguayo. *Producción Ovina*, 21, 1–11.
- González, J. F., Ivaro, H. A., Molina, J. M., Fernández, A., Raadsma, H. W.; Meeusen, E. N. T., & ... Piedrafita, D. (2008). Comparative experimental *Haemonchus contortus* infection of two sheep breeds native to the Canary Islands. *Veterinary Parasitology*, 153, 374–378.
- González, R., López, M. E., Conde, M. M., Mendoza, P., Aguilar, L., & Jaso G. (2017). Immune and haematological parameters of Blackbelly ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 30, 219-230.
- Hamer, K., McIntyre, J., Morrison, A. A., Jennings, A., & Robert F. (2019). The dynamics of ovine gastrointestinal nematode infections within ewe and lamb cohorts on three Scottish sheep farms. *Preventive Veterinary Medicine*. 171,104752.
- Houdijk, J. G. M. (2008). Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. *Parasite Immunology*, 30, 113-121.

- Houdijk, J. G. M., Jackson, F., Coop, R.L., & Kyriazakis, I. (2006). Rapid improvement of immunity to *Teladorsagia circumcincta* is achieved through a reduction in the demand for protein in lactating ewes. *International Journal for Parasitology*, 36, 219–227. doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.09.014.
- Idika, I., Chiejina, S., Mhomga, L., Nnadi, P., & Ngongeh, L. (2012). Correlates of resistance to gastrointestinal nematode infection in Nigerian West African dwarf sheep. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5, 529–532. doi.org/10.1016/S1995-7645(12)60093-5.
- Marie-Magdeleine, C., Ceriac, S., Barde, D. J., Minatchy, N., Periacarpin, F., Pommier, F., &... Archimède, H. (2020). Evaluation of nutraceutical properties of *Leucaena leucocephala* leaf pellets fed to goat kids infected with *Haemonchus contortus*. *BMC Veterinary Research*, 16, 280, doi.org/10.1186/s12917-020-02471-8.
- Mihí, B., Van Meulder, F., Vancoppenolle, S., Rinaldi, M., Chiers, K., Van den Broeck, W., & ... Geldhof, P. (2014). Analysis of the mucosal immune responses induced by single and trickle infections with the bovine abomasal nematode *Ostertagia ostertagi*. *Parasite Immunology*, 36, 150–156.
- Mravčáková, D., Váradyová, Z., Kopčáková, A., Čobanová, K., Grešáková, L., Kišidayová, S., & ... Várady, M. (2019). Natural chemotherapeutic alternatives for controlling of haemonchosis in sheep. *BMC Veterinary Research*, 15, 1-13, doi.org/10.1186/s12917-019-2050-2.
- Muñoz-Guzmán, M. A., Cuenca-Verde, C., Buendía-Jiménez, J. A., & Alba-Hurtado, F. (2019, 28-30 de Agosto). Citocinas y hormonas involucradas en la respuesta del hospedador a la hemoncosis ovina. XI Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria, Monterrey, Nuevo León. México.
- Raisová, S. L., Matoušková, P., Vokřál, I., Lamka, J., Szotáková, B., Sečkařová, A., & ... Skálová, L. (2018). Metabolism of albendazole, ricobendazole and flubendazole in *Haemonchus contortus* adults: Sex differences, resistance-related differences and the identification of new metabolites. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 8, 50–58, doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.01.005.
- Reyes-Guerrero, D. E., Cedillo-Borda, M., Alonso-Morales, R. A., Alonso-Díaz, M. A., Olmedo-Juárez, A., Mendoza-de-Give, P., & López-Arellano, M. E. (2020). Comparative study of transcription profiles of the P-glycoprotein transporters of two *Haemonchus contortus* isolates: Susceptible and resistant to ivermectin. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 238, 111281, doi.org/10.1016/j.molbiopara.2020.111281.
- Ribeiro, B. F., & de Araújo J. V. (2014). Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 71–82, doi10.1007/s00253-013-5366-Z.

- Rodríguez, G. J. D., Arece, G. J., Olivares, J., Alemán, Y., & Sánchez, C. Y. (2015). Antihelmínticos, resistencia y método FAMACHA. Experiencia cubana en ovinos. *Revista de Salud Animal*, 37, 57-63.
- Segurola, G. H., Cárdenas, L. G., & Burgos, P. R. (2016). Nutrientes e inmunidad. *Nutrición Clínica en Medicina*, X, 1-19.
- 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 conditions. *Small Ruminant Research*, 103, 28– 40.
- Werne, S., Peter, E., Maurer, V., Probst, J. K., Hoste, H., Drewek, A., & Heckendorn, F. (2013). Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and faba vean (*Vicia faba*) on the periparturient rise in ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Small Ruminant Research*, 113, 454- 460.
- Westers, T., Jones-Bitton, A., Menzies, P., VanLeeuwen, J., Poljak, Z., & Peregrine, A. S. (2017). Comparison of targeted selective and whole flock treatment of periparturient ewes for controlling *Haemonchus sp.* on sheep farms in Ontario, Canada. *Small Ruminant Research*, 150, 102-110, doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.03.013.

*Este artículo fue enviado a la Revista Pastos y Forrajes*

## **CAPÍTULO 2. PAPEL DE LA ENERGÍA Y LAS PROTEÍNAS DEL ALIMENTO DURANTE LA INFECCIÓN CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN PEQUEÑOS RUMIANTES: REVISIÓN**

### **Role of feed energy and protein during infection with gastrointestinal nematodes in small ruminants: Mini review**

Yoel López-Leyva<sup>a,b</sup>, Roberto González-Garduño<sup>a\*</sup>, Maximino Huerta-Bravo<sup>a</sup>,  
Rodolfo Ramírez-Valverde<sup>a</sup>, Javier Arece-García<sup>b</sup>, Glafiro Torres-Hernández<sup>c</sup>

<sup>a</sup> *Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia, Posgrado en  
Producción Animal, Texcoco de Mora, Estado de México, México.*

<sup>b</sup> *Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Universidad de  
Matanzas, Habana, Cuba*

<sup>c</sup> *Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Montecillo, Texcoco, Estado de  
México, México.*

\*Autor para correspondencia: +52 9361005321, R. González Garduño,  
[robgardu@hotmail.com](mailto:robgardu@hotmail.com)

### **Resumen**

Este documento tuvo como objetivo identificar la participación de la energía y la proteína de la dieta de las ovejas durante la infección con nematodos gastrointestinales (NGI). Se realizó una revisión de la literatura científica para mostrar las consecuencias de los NGI en la productividad de los pequeños rumiantes, principalmente el efecto de *Haemonchus contortus* sobre la salud animal. La revisión se centró sobre el desequilibrio proteico-energético causado por los NGI y su relación con la respuesta inmune de acuerdo con el gasto energético y la suplementación proteica. Se destacan los casos de resistencia de los NGI a la mayoría de los antihelmínticos utilizados, así como la adaptabilidad de *H. contortus* a diferentes ambientes. Además, se discutió el papel de la suplementación de energía y proteína en el desarrollo de resistencia y resiliencia a los NGI, y la respuesta a la infección a través de la inclusión de proteína y energía en la dieta. La calidad de la proteína que llega al intestino es fundamental

como estrategia nutricional para incrementar la resistencia del huésped a los NGI. La suplementación con proteína y energía en ovejas tiene un efecto importante durante el parto al aumentar su respuesta inmune lo que le permite tolerar las altas tasas de infección.

Palabras clave: Resistencia antihelmíntica, inmunidad, parásitos, nutrición, pequeños rumiantes.

## **Abstract**

This paper was aimed to identify the participation of dietary energy and protein on sheep during infection with gastrointestinal nematodes (GIN). A review of the scientific literature was carried out to show the consequences of GIN on the productivity of small ruminants, mainly the effect of *Haemonchus contortus* on animal health. The review focused on the protein-energy imbalance caused by GIN and its relationship with the immune response according to energy expenditure and protein supplementation. The cases of GIN resistance to most of the anthelmintics used are highlighted, as well as the adaptability of *H. contortus* to different environments. In addition, the role of energy and protein supplementation in the development of resistance and resilience to GIN, and the response to infection through the inclusion of protein and energy in the diet was discussed. The quality of the protein that reaches the intestine is essential as a nutritional strategy to increase host resistance to GIN. Protein and energy supplementation in sheep have an important effect during peripartum by increasing their immune response, allowing them to tolerate high infection rates.

Keywords: Anthelmintic resistance, immunity, digestive parasites, nutrition, small ruminants.

## **Introducción**

Los nematodos gastrointestinales (NGI) representan un problema importante para la industria ovina, debido a que el uso frecuente de antihelmínticos ha provocado el desarrollo de poblaciones con resistencia antihelmíntica (RA) en muchos países (Martínez-Valladares *et al.*, 2015; Arece-García *et al.*, 2016). *Haemonchus contortus* es la principal especie de nematodo involucrada en el desarrollo de RA y por lo tanto en la baja efectividad de los antihelmínticos en ovejas y cabras (Kotze y Prichard 2014; Gasbarre *et al.*, 2015; Crook *et al.*, 2016; Mickiewicz *et al.*, 2020). Sin embargo, otras especies de nematodos como

*Trichostrongylus colubriformis* (Van den Brom *et al.*, 2015) y *Cooperia curticei* también han mostrado desarrollo de RA en todo el mundo (George *et al.*, 2018). Ante esta situación, se ha generado una variedad de alternativas de control de NGI, las cuales intentan no depender del uso de antihelmínticos, y a la vez disminuir la tasa de infección parasitaria, así como los efectos adversos de los NGI (Arece-García *et al.*, 2016; Campbell *et al.*, 2017; Westers *et al.*, 2017; Acharya *et al.*, 2020).

Una alternativa para disminuir los efectos de la RA ha sido mejorar la resistencia genética natural del huésped a la infección por NGI para reducir el uso de antihelmínticos. El desarrollo del sistema inmunológico contra NGI es importante en ovinos y caprinos los cuales son altamente susceptibles a los NGI (Redman *et al.*, 2008; Hussain *et al.*, 2014). Así, la identificación de desencadenantes de los mecanismos de defensa inmunológica en el animal permite la eliminación de larvas infectivas y parásitos adultos (Lacroux *et al.*, 2006). Estos mecanismos dependen de varios factores como el nivel de infección, la antigenicidad del parásito, la edad, el estado fisiológico, incluida una alimentación adecuada (Hughes y Kelly, 2006). Una nutrición balanceada es importante porque una deficiencia puede comprometer la respuesta inmunológica del animal (Cho *et al.*, 2012; Schafera *et al.*, 2015), afectando los mecanismos de control del agente patógeno, como los fagocitos, y el sistema del complemento (Yap *et al.*, 2014; Seguro *et al.*, 2016). Una adecuada suplementación proteica tiene repercusiones positivas en la respuesta efectora a la infección con NGI (Bambou *et al.*, 2013), al aumentar los conteos de mastocitos, eosinófilos y leucocitos globulares en la mucosa, así como un incremento de los niveles de inmunoglobulinas (Gerbe *et al.*, 2016).

Los estudios en cabritos han demostrado que la suplementación proteica y energética aumenta el desarrollo de resistencia y resiliencia contra la infección de NGI (Torres-Acosta *et al.*, 2006). Además, Gárate-Gallardo *et al.* (2015) también en cabritos mostraron un incremento en la resistencia a la infección

natural con NGI y en el índice productivo, agregando sólo 225 g de maíz molido a la dieta, con lo que se cubrió el 44.3 (2.64 MJ día<sup>-1</sup>) y 34.7% (10.90 g día<sup>-1</sup>) de los requisitos de energía y proteína metabolizable.

Dada la importancia de la energía y la proteína en el desarrollo de la inmunidad en el ovino de pelo, el objetivo de este trabajo fue identificar el papel de la energía y la proteína en la dieta de los ovinos y su participación durante la infección por nematodos gastrointestinales (NGI).

### **Metodología.**

Para la realización de este trabajo, se realizó una búsqueda bibliográfica con la ayuda de la plataforma Elsevier (Scopus y ScienceDirect) y las herramientas Google Scholar, Redalyc y Scielo. De 200 documentos como artículos, tesis, libros y metaanálisis, referencias, sólo se citaron 81. Los manuscritos estaban relacionados con las consecuencias de la infección de NGI en la producción y salud de pequeños rumiantes, principalmente los efectos de *H. contortus*, y la participación de los NGI sobre el desequilibrio energía-proteína y la respuesta inmune en función del gasto energético y la suplementación proteica. Se utilizaron las siguientes palabras clave: resistencia a los antihelmínticos, nematodos gastrointestinales, pequeños rumiantes, energía y proteína del alimento y respuesta inmune.

### **Consecuencias del parasitismo por nematodos gastrointestinales en la producción animal**

Los costos derivados de aspectos sanitarios son un tema alarmante a nivel mundial, en Australia, la industria de la lana gasta en el control de NGI alrededor de 430 millones de dólares por año (Lane *et al.*, 2015) y se estima un costo de 6,0 dólares por cabeza. El costo aumenta durante la temporada de lluvias, debido al aumento de la prevalencia de parásitos por efectos climáticos (Emery *et al.*, 2016).

Las pérdidas económicas están directamente relacionadas con las tasas de infección y las repercusiones en la salud del huésped (Méndez-Ortiz *et al.*, 2019). En este sentido, la evaluación de la prevalencia de helmintos gastrointestinales, mediante identificación *in situ* y conteo de parásitos en el examen post-mortem, resalta su importancia en pequeños rumiantes, al alcanzar en ovinos hasta el 75% de prevalencia, con especies altamente patógenas como *H. contortus* (Das *et al.*, 2017). Incluso en países con clima templado como Alemania, la infección natural por NGI en corderos es común y la prevalencia es relativamente alta (62,8%), lo que implica altos costos en el control de NGI para mantener la productividad animal (Idris *et al.*, 2012).

En ovinos, el parasitismo gastrointestinal tiene un alto impacto en el desempeño productivo, provoca anemia severa, anorexia y pérdida de peso, además de altos costos por los tratamientos y la alta tasa de morbilidad y mortalidad (Charlier *et al.*, 2014; Mavrot *et al.*, 2015; Burgunder *et al.*, 2018). En la actualidad, el problema se acentúa por la resistencia a la mayoría de los fármacos, y esto provoca que la desparasitación no sea eficaz (Van den Brom *et al.*, 2015; Arece *et al.*, 2016), lo que ocasiona que las pérdidas económicas en el sector se incrementen.

Los corderos y las ovejas lactantes constituyen las dos categorías con mayor susceptibilidad a los NGI (Arece, 2007; Campbell *et al.*, 2017), por lo que las estrategias de control deben estar dirigidas principalmente a esos animales. Las ovejas en los primeros días posparto son la principal fuente de infección de los potreros debido a la depresión de su sistema inmunológico, en consecuencia, con un aumento en la expulsión de huevos de NGI, fenómeno conocido como aumento periparto (Hamer *et al.*, 2019). Los aumentos en la expulsión de huevos de NGI junto con la depresión inmunológica en ovejas lactantes se asocian con una pérdida de peso debido al aumento de las necesidades de sustento de sus crías (González-Garduño *et al.*, 2017), lo que puede llevar a una desnutrición severa y la muerte de las crías (González-Garduño *et al.*, 2018). Kerr *et al.*, (2020)

han propuesto el uso de moxidectina de acción prolongada para disminuir el número de tratamientos antihelmínticos requeridos en el año y disminuir la contaminación de los pastos al reducir la carga de nematodos de las ovejas y sus corderos.

### **Efecto de *H. contortus* sobre la salud animal**

*H. contortus* es una de las principales especies de NGI que afectan a los ovinos y caprinos. Por su amplia distribución cosmopolita y alta patogenicidad, representa un riesgo en la producción en muchas partes del mundo, al originar pérdidas económicas debidas a la reducción en el desempeño productivo y la salud de los animales (Bambou *et al.*, 2013; Charlier *et al.*, 2014; Mavrot *et al.*, 2015; Emery *et al.*, 2016).

Este nematodo se localiza en la mucosa del abomaso, provocando daños por su acción expoliadora debido a su comportamiento hematófago (Marume *et al.*, 2014; Emery *et al.*, 2016). Los efectos a nivel de la mucosa gastrointestinal resultan en una pérdida considerable de proteína endógena del tracto, lo que puede conducir a pérdida de peso, anemia severa y alta mortalidad cuando la infección es muy alta. Además, signos como emaciación, debilidad, mucosas pálidas, pelo de capa rugosa, fácilmente removible y sin brillo, son indicadores en los ovinos afectados por este parásito (Hassan *et al.*, 2016). Las secreciones celulares de las mucosas gastrointestinales pueden considerarse indicadoras de susceptibilidad o resistencia a los parásitos abomasales (Simpson *et al.*, 2016). Según Hasnain *et al.* (2013), una menor protección contra los parásitos podría deberse a la reducción de la secreción de mucina superficial en el estómago y, en contraste la hipersecreción de mucinas en el intestino ayuda a la expulsión del parásito.

La alta prevalencia de *H. contortus* observada en todo el mundo se ha atribuido a que tiene la capacidad de sobrevivir en ambientes muy variables y posee un alto nivel de polimorfismo genético (Blaxter *et al.*, 2012; Besier *et al.*, 2016). En

general, los nematodos evolucionaron para aprovechar una amplia gama de ambientes (Blaxter *et al.*, 2012; Rodríguez-Diego *et al.*, 2018). Por tal motivo, en los últimos años, este nematodo ha tenido un aumento en su dispersión, independientemente de que sea un parásito considerado de zonas lluviosas tropicales y subtropicales (Besier *et al.*, 2016; Emery *et al.*, 2016).

En la actualidad, la búsqueda de alternativas para el control de NGI es uno de los mayores desafíos para la producción de pequeños rumiantes (Callanan *et al.*, 2018). La RA se ha originado por el uso frecuente e indiscriminado de antihelmínticos. En cada desparasitación se eliminan los susceptibles y por ende se seleccionan poblaciones con RA, lo que provoca que en cada desparasitación la eficiencia de los productos sea mejor en el control de los NGI (George *et al.*, 2018; Stuchlíková *et al.*, 2018). La existencia de RA en muchas especies de parásitos gastrointestinales, el alcance geográfico y la adaptabilidad de *H. contortus* sugieren la necesidad de desarrollar nuevas estrategias sostenibles de prevención y control (Besier *et al.*, 2016).

Se han evaluado diferentes estrategias para el control de parásitos en ovejas bajo diferentes condiciones y ofrecen oportunidades para ser utilizadas en un contexto de control integrado de parásitos (Arece, 2007). Las opciones más importantes incluyen: el uso de hongos nematófagos (Braga *et al.*, 2014), selección de genotipos resistentes (McRae *et al.*, 2014; Hine *et al.*, 2015), uso de plantas con potencial antiparasitario (Marie-Magdeleine *et al.*, 2010; Arece *et al.*, 2012; Marie-Magdeleine *et al.*, 2020; Romero, 2020), aplicación de tratamientos selectivos con antihelmínticos comerciales (Maia *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2015; Arece *et al.*, 2016; Westers *et al.*, 2017), manejo nutricional (Torres-Acosta *et al.*, 2012), utilización de vacunas (Nisbet *et al.*, 2013; Matthews *et al.*, 2016), y el desarrollo de inmunorresistencia (Maza-Lopez *et al.*, 2020). Recientemente, se ha puesto un gran interés en el manejo integral como una forma de combinar diferentes opciones de control y retrasar la aparición de RA, por lo que los beneficios económicos se pueden incrementar al disminuir la aplicación de

tratamientos químicos, mejorar el crecimiento animal y reducir la severidad de los daños que provoca el parásito (Whitley *et al.*, 2014; Campbell *et al.*, 2017).

### Desbalance energético-proteico causado por NGI

Numerosos estudios examinan la influencia de la nutrición cuando ocurre infección con NGI en pequeños rumiantes y su impacto en la producción de carne o lana (Cériac *et al.*, 2019; Méndez-Ortiz *et al.*, 2019). Whitley *et al.* (2014), sugieren que el estudio en rumiantes lactantes, incluidas las cabras lecheras, es un modelo único para investigar las interacciones entre la nutrición y la infección por NGI y las consecuencias en la producción (Fig.1), debido a la alta tasa de infección que ocurre en estos animales.

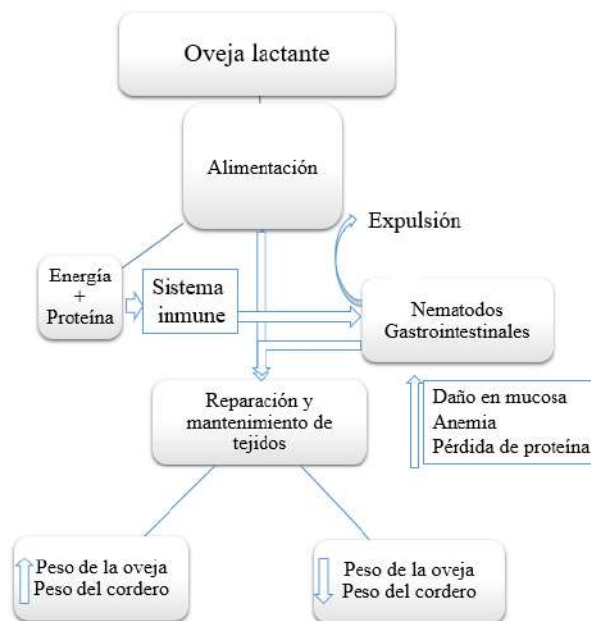


Fig. 1 Diagrama de interacción entre nutrición y parásitos gastrointestinales. Las hembras lactantes son un modelo único para describir esta interacción. Los nematodos gastrointestinales (NGI) afectan directamente el estado nutricional del hospedador. La manipulación de la energía y la proteína es fundamental para un mejor desarrollo de los mecanismos inmunológicos frente a los nematodos gastrointestinales.

Los resultados de Méndez-Ortiz *et al.* (2019), obtenidos mediante un metaanálisis en ovinos, sugieren una interacción directa entre el parasitismo y la ingesta de energía y proteína en la dieta. Estos autores indicaron que los animales infectados requieren más energía para mantener un aumento de peso vivo similar con respecto a los no infectados. También afirman que se necesita un aporte adicional de energía, además de proteína, para el desarrollo de los mecanismos inmunológicos; de manera similar a lo sugerido por Toscan *et al.* (2017) y Hoste *et al.* (2008). El adecuado equilibrio en la concentración de energía y proteína en la dieta se considera fundamental para incrementar la productividad animal (Méndez-Ortiz *et al.*, 2019). En general, un desequilibrio en el aporte energético y proteico de la dieta repercute en la capacidad digestiva y de absorción en el intestino delgado afectado por NGI (Sun *et al.*, 2017).

### **La respuesta inmune del animal relacionada con el gasto energético**

La energía de la dieta es muy importante para el desarrollo de una respuesta inmunológica eficiente (Toscan *et al.*, 2017). La inmunidad natural generalmente requiere un número menor de células receptoras con respecto a la inmunidad adquirida, mientras que el desarrollo de inmunidad origina un mayor gasto de energía. En este sentido, las deficiencias energéticas pueden provocar problemas en el ajuste inmunológico (Fig. 2). Según O'Neill *et al.* (2016), la inmunidad está relacionada con los cambios en el metabolismo, determinada a la vez por el comportamiento funcional de las células inmunes. La activación, el crecimiento y la proliferación celular son funciones electivas y regresan al estado basal dependiendo de los cambios dinámicos en el metabolismo celular (Colditz, 2008; Mancebo, 2017). De acuerdo con estos conceptos, Mancebo (2017) afirma que, luego de la activación de las células del sistema inmunológico, se da una reprogramación metabólica necesaria para enfrentar las necesidades energéticas, lo que implica la producción de ATP e intermediarios biosintéticos, necesarios para permitir la proliferación y ejercer sus funciones efectoras. La compleja interacción entre la reprogramación metabólica y la inmunidad

proporciona una amplia comprensión del funcionamiento del sistema inmunológico en la salud y la enfermedad (O'Neill *et al.*, 2016).

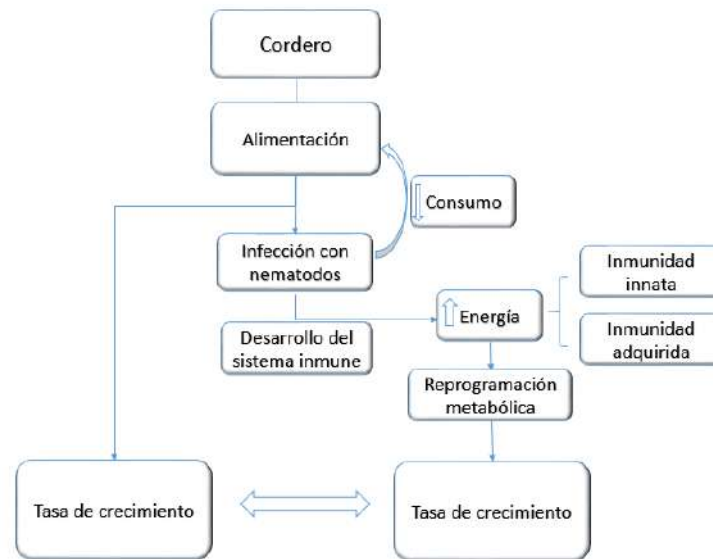


Fig. 2. Relación de la respuesta inmune en función de las necesidades energéticas. En animales altamente parasitados, de acuerdo con las necesidades energéticas, se produce una reprogramación metabólica por cambios en el metabolismo celular, producción de ATP e intermedios biosintéticos. El metabolismo se ajusta de acuerdo al desarrollo y funcionamiento del sistema inmunológico y afecta el consumo voluntario de alimentos y la tasa de crecimiento de los animales.

Las células del sistema inmunológico se adaptan y desvían su metabolismo para un funcionamiento más eficiente (Colditz, 2008; Pearce y Pearce, 2013; Rhoads *et al.*, 2017). La infección con NGI en ovinos conduce a una disminución en la tasa de deposición de grasa, originada por un aumento en el gasto energético para la síntesis de proteínas, que podría justificarse por la necesidad de reparar los tejidos afectados en el sistema digestivo (Hoste *et al.*, 2005). En ovejas infectadas con parásitos, la desviación de nutrientes hacia la función inmune reduce la tasa de crecimiento debido a la prioridad metabólica, y los daños en abomaso originan una disminución en la ingesta voluntaria de alimento (Sykes y Greer, 2003). Varios autores indican que en ovinos durante los primeros meses de la infección con NGI, el gasto metabólico es alto para desarrollar la inmunidad,

mientras que la respuesta en memoria de las posteriores infecciones requiere de menos energía (Colditz, 2008; Colditz y Hine, 2016).

### **Suplementación proteica y respuesta animal**

Las proteínas participan en muchas funciones dentro del organismo, incluida la respuesta inmunológica, el transporte de sustancias, la catálisis enzimática, la distribución de líquidos, el mantenimiento de la presión oncótica del plasma y la participación en los procesos de coagulación (Ruiz-Reyes, 2008). Algunas pruebas indican el papel de la suplementación proteica en la reducción de los efectos del parasitismo, principalmente durante las últimas etapas de una infección continua con NGI, es decir, durante la fase de expresión de inmunidad (Fig. 3). Este aporte proteico repercute directamente en las diferentes respuestas efectoras (mediadas por células o anticuerpos), aumentando los niveles de mastocitos, eosinófilos y leucocitos globulares en la mucosa y elevando los niveles de inmunoglobulinas en la sangre (Colditz y Hine, 2016). En un estudio realizado por Rocha *et al.* (2011), los autores encontraron una mejor respuesta en los niveles de anticuerpos IgG e IgA en sueros contra larvas infectivas y antígenos somáticos adultos de *H. contortus* en las ovejas que recibieron dietas con alta cantidad de proteína metabolizable.

La suplementación con proteína se asocia con una reducción del conteo fecal de huevos (CFH) de NGI (Shaw *et al.*, 1995). Sin embargo, no siempre sucede esto, porque al parecer las necesidades de energía se incrementan. Los resultados en corderos criollos infectados con *H. contortus* y suplementados con proteína, mostraron mayor excreción de N en su orina y heces que los no suplementados, sin embargo, no hubo efecto sobre el CFH (Hoste *et al.*, 2005). Los estudios con dietas con un nivel bajo en proteína indican un aumento en los efectos adversos del parasitismo y los genotipos más resistentes podrían no mostrar superioridad alguna en comparación con los susceptibles. Una alternativa a la suplementación proteica consiste en el uso de N no proteico (urea), aunque se requiere de proteína verdadera. La harina de semilla de algodón en un estudio realizado por

Knox y Steel (1996), mejoró el rendimiento animal y aumentó los mecanismos de resistencia a NGI en ovejas jóvenes con dietas con forrajes de baja calidad (Knox *et al.*, 2006).

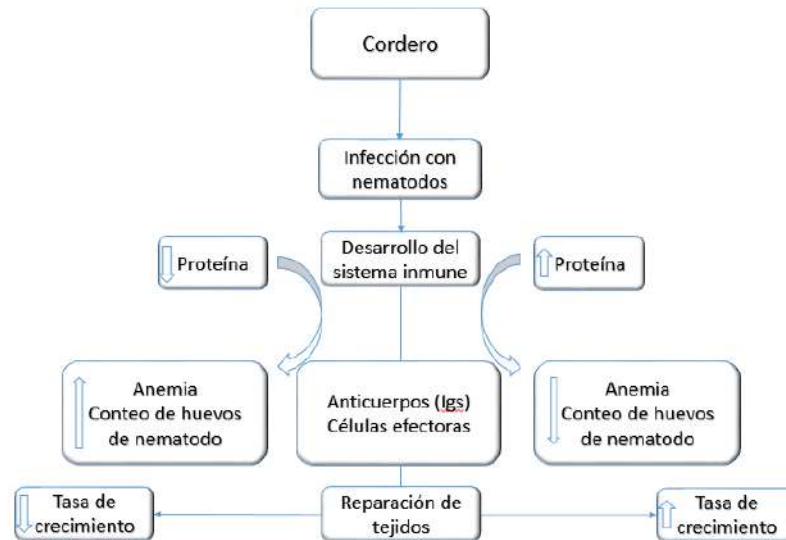


Fig. 3. Suplementación proteica y respuesta inmune de animales parasitados. La suplementación con proteína influye en el conteo fecal de huevos (CFH), el desarrollo de los mecanismos inmunitarios, el desarrollo de anticuerpos y células efectoras, y el nivel de infección de NGI. El alto nivel de proteína en la dieta está relacionado con un CFH bajo. El bajo nivel de proteína en la dieta está relacionado con un aumento del CFH.

Los efectos de la nutrición sobre la respuesta inmune son más notorios cuando los niveles de infección por parásitos son altos, mientras que en niveles bajos de infección el efecto de la suplementación con proteína no tiene una respuesta clara (Nnadi *et al.*, 2007). Los niveles más bajos de proteína promueven un aumento del CFH cuando los animales tienen una fuerte infección con NGI. Dado que el metabolismo de las proteínas es el más afectado durante la infección con NGI, el aumento de la proteína digestible de la ración podría mejorar la resistencia y tolerancia a la infección por parásitos. Se indujo una reducción en la oviposición de *H. contortus* mediante la suplementación con proteínas de sobrepaso en cabras, reduciendo la FEC (Cériac *et al.*, 2019). Crawford *et al.* (2020) encontraron que los corderos suplementados con proteína no degradable en

rumen a base de harina de maíz y pescado aumentaron su peso vivo y el hematocrito, mientras que el CFH disminuyó. Los cambios observados en el CFH infieren que la harina de pescado parece tener una influencia significativa en la respuesta inmunológica.

La proteína dietética es esencial para las estrategias nutricionales para reducir el efecto de los NGI. En este sentido, la suplementación proteica de alta calidad debe considerar el contenido y la relación de aminoácidos esenciales, aspecto que se debe estudiar con mayor detalle. De hecho, en caso de escasez de proteína metabolizable, se ha encontrado menor resistencia a NGI (Houdijk, 2012). Cériac *et al.* (2019) propusieron que, en la actividad ruminal, manejar los perfiles de aminoácidos absorbidos por el intestino no es una tarea fácil. De hecho, en los rumiantes, las proteínas que llegan al intestino son aquellas que escapan a la degradación microbiana en el rumen (es decir, proteínas de derivación) y proteínas microbianas sintetizadas a partir de aminoácidos de la dieta y proteínas intestinales endógenas (Nozière *et al.*, 2018). Este tema está poco estudiado, y sería interesante evaluar en qué medida el origen de los aminoácidos puede afectar la construcción de elementos del sistema inmunológico (Houdijk, 2012).

## **Conclusiones**

La resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos, especialmente en *H. contortus*, sugiere la necesidad de desarrollar nuevas estrategias de prevención y control sostenible. El papel de la suplementación de proteína y energía en la reducción del parasitismo y la compleja interacción entre la reprogramación metabólica y la inmunidad proporcionan elementos del funcionamiento del sistema inmunológico en la salud y la enfermedad. La suplementación energética tiene un efecto importante en la infección primaria y la suplementación con proteína reduce el parasitismo durante la infección parasitaria.

## Agradecimientos

Se agradece a CONACYT por la beca otorgada al primer autor para la realización de sus estudios de doctorado.

## Literatura citada

- Acharya M.; James E.; Miller J. E.; Terril Erin H. T.; L. Wood L. E. & Muir P. J. Quebracho tannins aid in the control of *Eimeria* spp. and gastrointestinal nematodes in lambs and goat kids. *Vet. Parasitol.* 288: 109295, 2020.
- Arece, G. J. La epizootiología como herramienta para el control parasitario en ovinos. *Pastos y Forrajes.* 30: 35-43, 2007.
- Arece, G. J.; Roche, G. Y.; López, L. Y. & Molina, P. M. Efecto *in vitro* del extracto acuoso de *Dichrostachys cinérea* (L.) Wight & Arn. en el desarrollo de las fases exógenas de estrongílicos gastrointestinales de ovinos. *Pastos y Forrajes.* 35: 301-310, 2012.
- Arece-García, J.; López-Leyva, Y.; González-Garduño, R.; Torres-Hernández, G.; Rojo-Rubio R. & Marie-Magdeleine, Carine. Effect of selective anthelmintic treatments on health and production parameters in Pelibuey ewes during lactation. *Trop Anim Health Prod.* 48: 283-287, 2016.
- Bambou, J. C.; Larcher, T.; Ceí, W.; Dumoulin, P. J. & Mandonnet, N. Effect of experimental infection with *Haemonchus contortus* on parasitological and local cellular responses in resistant and susceptible young Creole goats. *BioMed Res Internat.* 2013: 1-9, 2013.
- Besier, R. B.; Kahn, L. P.; Sargison, N. D. & Van Wyk, J. A. The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. *Adv Parasitol.* 93: 95-143, 2016.
- Blaxter, M.; Kumar, S.; Kaur, G.; Koutsovoulos, G. & Elsworth, B. Genomics and transcriptomics across the diversity of the Nematoda. *Parasite Immunol.* 34: 108-120, 2012.
- Braga, F. R. & de Araújo, J. V. Hongos nematófagos para el control biológico de nematodos gastrointestinales en animales domésticos. *Appl Microbiol Biotechnol.* 98: 71–82, 2014.
- Burgunder, J., Petrželková, K. J., Modrý, D., Kato, A., & MacIntosh, A. J. J. (2018). Fractal measures in activity patterns: Do gastrointestinal parasites affect the complexity of sheep behaviour? *Applied Animal Behaviour Science*, 205, 44–53, doi.org/10.1016/j.applanim.2018.05.014.

- Callanan, K. Micah.; Habibi, A. Sarah.; Law, W. J.; Nazareth, Kristen.; Komuniecki, R. L. & Forrester, G. S. Investigating the function and possible biological role of an acetylcholinegated chloride channel subunit (ACC-1) from the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. IJP: Drugs and Drug Resistance. 8: 526-533, 2018.
- Campbell, B. J.; Pullin, A. N.; Pairis-Garcia, M. D.; McCutcheon, J. S.; Lowe, G. D.; Campler, M. R.; et al. The effects of alternative weaning strategies on lamb health and performance. Small Rumin Res. 156: 57-65, 2017.
- Cériac, S.; Archimède, H.; Feuillet, D.; Félicité, Y.; Giorgi, M. & Bambou, J. C. Supplementation with rumen protected proteins induces resistance to *Haemonchus contortus* in goats. Sci Rep .9: 1237, 2019.
- Charlier, J.; van der Voort, M.; Kenyon, F.; Skuce, P. & Vercruysse, J. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. Trends Parasitol. 30: 361- 367, 2014.
- Cho, W. S.; Duffin, R.; Poland, C. A.; Duschl, A.; Oostingh, J. G.; MacNee, W.; et al. Differential pro-inflammatory effects of metal oxide nanoparticles and their soluble ions *in vitro* and *in vivo*, zinc and copper nanoparticles, but not their ions, recruit eosinophils to the lungs. Nanotoxicology. 6: 22- 35, 2012.
- Colditz, G. I. & Hine, B. C. A Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare. Anim Prod Sci. 56: 1961-1983, 2016.
- Colditz, I. G. Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. Parasite Immunol. 30: 63-70, 2008.
- Crawford, C. D.; Mata-Padrino, D. J.; Belesky, D. P. & Bowdridge, S. A. Effects of supplementation containing rumen by-pass protein on parasitism in grazing lambs. Small Rumin Res. 190: 106161, 2020.
- Crook, E. K.; O'Brien, D. J.; Howell, S. B.; Storey, B. E.; Whitley, N. C.; Burke, J. M.; et al. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the Mid-Atlantic region and comparison of *in vivo* and *in vitro* detection methods. Small Rumin Res.143: 89-96, 2016.
- Das, B.; Kumar, N.; Jadav, M. M.; Solanki, J. B. & Rao, T. K. S. Physio-biochemical parameters: A potential tool for target-selective treatment of haemonchosis in the small ruminants. Trop Anim Health Prod. 49: 1577-1589, 2017.
- Emery, L. D.; Hunt, W. P. & Le Jambre, F. L. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? Int J Parasitol. 46: 755-769, 2016.

- Gárate-Gallardo, L.; Torres-Acosta, J. F. J.; Aguilar-Caballero, J. A.; Sandoval-Castro, A. C.; Cámara-Sarmiento, R. & Canul-Ku Hilda. L. Comparing different maize supplementation strategies to improve resilience and resistance against gastrointestinal nematode infections in browsing goats. *Parasite*. 22:19-28, 2015.
- Gasbarre, L. C.; Ballweber, Lora.R.; Stromberg, B. E.; Dargatz, D. A.; Rodriguez, Judy M.; Kopral, Christine A.; et al. Effectiveness of current anthelmintic treatment programs on reducing fecal egg counts in United States cow-calf operations. *Can J Vet Res*. 79: 296-302, 2015.
- George, M. M.; Lopez-Soberal, L.; Storey, B. E.; Howell, S. B. & Kaplan, R. M. 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, 2018.
- Gerbe, F.; Sidot, E.; Smyth, Danielle. J.; Ohmoto, M.; Matsumoto, I.; Dardalhon, Valérie.; et al. Intestinal epithelial tuft cells initiate type 2 mucosal immunity to helminth parasites. *Nature*. 529: 226- 242, 2016.
- González-Garduño R.; López-Arellano, María E.; Felipe-Conde, Magnolia. M.; Mendoza-de Give, P.; Aguilar-Marcelino, Liliana.; Jaso-Díaz, Gabriela. Immune and haematological parameters of Blackbelly ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 30: 219-230, 2017.
- González-Garduño, R.; López-Arellano, María E.; Mendoza-de Gives, P.; Torres-Hernández, G.; Arece-García, J. Immune response in Blackbelly lambs to *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* mixed infection in a hot and humid climate. *Tropical Biomedicine*. 35: 696-708, 2018.
- Hamer, K.; McIntyre, Jennifer.; Morrison, Alison. A.; Jennings, Amy.; Kellya, R. F.; Leeson Sarah.; et al. The dynamics of ovine gastrointestinal nematode infections within ewe and lamb cohorts on three Scottish sheep farms. *Preventive Veterinary Medicine*. 171:104752, 2019.
- Hasnain, S. Z.; Gallagher, A. L.; Grencis, R. K. & Thornton, D. J. A new role formucins in immunity, insights from gastrointestinal nematode infection. *Int J Biochem Cell Biol*. 45: 364- 374, 2013.
- Hassan, A. A.; Mohammed, A. A. & Hadree H. D. Some haematological and biochemical parameters assessments in sheep infection by *Haemonchus contortus*. *Tikrit J Pure Sci*. 21:11- 15, 2016.
- Hine, B. C.; Mallard, B. A.; Ingham, A. B. & Colditz, I. G. Immune competence in livestock. In: Hermes S, Dominik S (eds) *Animal Genetics and Breeding Unit*, University of New England, Armidale, England, 49-64, 2015.

- Hoste, H.; Torres-Acosta, J. F. J. & Aguilar-Caballero, A. J. Nutrition/parasite interactions in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? *Parasite Immunol.* 30: 7-88, 2008.
- Hoste, H.; Torres-Acosta, J. F. J.; Paolini, V.; Aguilar-Caballero, A.; Etter, E.; Lefrileux, Y.; et al. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Rumin Res.* 60: 141-151, 2005.
- Houdijk, J. G. M. Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Rumin Res.* 103: 41-49, 2012.
- Hughes, S. & Kelly, P. Interactions of malnutrition and immune impairment, with specific reference to immunity against parasites. *Parasite Immunol.* 111: 1-12, 2006.
- Hussain, T.; Periasamy, Kathiravan.; Asif, N.; Masroor Ellahi, B.; Pichler, R. & Diallo Adama. Sympatric species distribution, genetic diversity and population structure of *Haemonchus* isolates from domestic ruminants in Pakistan. *Vet Parasitol.* 206: 188-199, 2014.
- Idris, A.; Moors, Eva.; Sohnrey, B. & Gauly, M. Gastrointestinal nematode infections in German sheep. *Parasitol Res.* 110: 1453–1459, 2012.
- Kerr, C. L.; Armstrong, D. R. & Anderson, A. J. Short communication: A practical farm-based trial to compare ewe nematode control strategies in periparturient ewes. *PLoS ONE.* 15: e0236143, 2020.
- Knox, M. & Steel, J. Nutritional enhancement of parasite control in small ruminant production systems in developing countries of Southeast Asia and the Pacific. *Int J Parasitol.* 26: 963-970, 1996.
- Knox, M.; Torres-Acosta, J. F. J. & Aguilar-Caballero, A. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol.* 139: 385-393, 2006.
- Kotze, A. C. & Prichard, R. K. Anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus*: History, mechanisms and diagnosis. *Adv Parasitol.* 93: 397-428, 2014.
- Lacroux, Carolina.; Nguyen, T. H. C.; Andreoletti, O.; Prevota, F.; Griseza, Chistelle.; Bergeaud J. P.; et al. *Haemonchus contortus* (Nematoda:Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Vet Res.* 37: 607-622, 2006.
- Lane J.; Jubb, T.; Shephard, R.; Webb-Ware, J. & Fordyce, G. Priority List of Endemic Diseases for the Red Meat Industries. Meat and Livestock Australia, MLA Final Report, Sydney, Australia, 2015.

- Maia, Dhéri.; Rosalinski-Moraes, Fernanda.; Torres-Acosta, J. F.; Rizzon-Cintra, María. C. & Santos-Sotomaior, Cristina. FAMACHA© system assessment by previously trained sheep and goat farmers in Brazil. *Vet Parasitol.* 209: 202-209, 2015.
- Mancebo, T. C. Reprogramación metabólica y transcripcional en células del sistema inmune. Tesis de Maestría. Instituto de Biología y Genética Molecular, Universidad de Valladolid, España, 2017.
- Marie-Magdeleine Carine.; Ceriac, S.; Barde, D. J.; Minatchy, Nathalie.; Periacarpin, F.; Pommier, Frederic.; et al. Evaluation of nutraceutical properties of *Leucaena leucocephala* leaf pellets fed to goat kids infected with *Haemonchus contortus*. *BMC Veterinary Research.* 16: 280, 2020.
- Marie-Magdeleine, C.; Udino, L.; Philibert, L.; Bocage, B. & Archimede, H. *In vitro* effects of Cassava (*Manihot esculenta*) leaf extracts on four development stages of *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol.* 1-2: 85-92, 2010.
- Martínez-Valladares, M.; Geurden, T.; Bartram, D. J.; Martínez-Pérez, J. M.; Robles-Pérez, D.; Bohórquez, A.; et al. Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintic in sheep, cattle and horses in Spain. *Vet Parasitol.* 211: 228-330, 2015.
- Marume, U.; Chimonyo, M. & Dzama, K. Influence of dietary supplementation with *Acacia karroo* on experimental haemonchosis in indigenous Xhosa lop-eared goats of South Africa. *Liv Sci.* 144: 132-139, 2014.
- Matthews, J. B.; Geldhof, P.; Tzelos, T. & Claerebout, E. Progress in the development of subunit vaccines for gastrointestinal nematodes of ruminants. *Parasite Immunol.* 38: 744-753, 2016.
- Mavrot, F.; Hertzberg, H. & Torgerson, P. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: A systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors.* 8: 557, 2015.
- Maza-Lopez, Jocelyn, Pacheco-Armenta, Martha. J.; Reyes-Guerrero, D. E.; Olmedo-Juárez, A.; González-Garduño, R.; Olazarán-Jenkins, Sara.; et al. Immune response related to Pelibuey sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes in a tropical region of Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports.* 21:100422, 2020.
- McRae, K. M.; McEwan, J. C.; Dodds, K. G. & Gemmell, N. J. Signatures of selection in sheep bred for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics.* 15: 637- 650, 2014.

- Méndez-Ortiz F. A.; Sandoval-Castro, C. A.; Vargas-Magaña, J. J.; Sarmiento-Franco, L.; Torres-Acosta, J. F. J. & Ventura-Cordero, J. Impact of gastrointestinal parasitism on dry matter intake and live weight gain of lambs: A meta-analysis to estimate the metabolic cost of gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol.* 265: 1-6, 2019.
- Mickiewicz, M.; Czopowicz, M.; Kawecka-Grochocka, E.; Moroz, A.; Szaluś-Jordanow, O.; Várady, M.; Königová, Alžbeta.; et al. The first report of multidrug resistance in gastrointestinal nematodes in goat population in Poland. *BMC Veterinary Research.* 16: 270, 2020.
- Nisbet, A. J.; McNeilly, T. N.; Wildblood, L. A.; Morrison, A. A.; Bartley, D. J.; Bartley, Y.; et al. Successful immunization against a parasitic nematode by vaccination with recombinant proteins. *Vaccine* 37: 4017e4023, 2013.
- Nnadi, P. A.; Kamalu, T. N. & Onah, D. N. The effect of dietary protein supplementation on the pathophysiology of *Haemonchus contortus* infection in West African Dwarf goats. *Vet Parasitol* 148: 256-261, 2007.
- Nozière, P.; Sauvant, D. & Delaby, L. INRA feeding system for ruminants. Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, 2018.
- O'Neill, L. A.; Kishton, R. J. & Rathmell, J. A guide to immunometabolism for immunologists. *Nature Reviews Immunol* 16: 553-565, 2016.
- Pearce, E. L. & Pearce, E. J. Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity* 38: 633-643, 2013.
- Redman, Elizabeth.; Packard, Erica.; Grillo, Victoria.; Smith, Judith.; Jackson, F.; Gilleard, John S. Microsatellite analysis reveals marked genetic differentiation between *Haemonchus contortus* laboratory isolates and provides a rapid system of genetic fingerprinting. *Int J Parasitol* 38: 111-122, 2008.
- Rhoads, P. J.; Major, S. A. & Rathmell, C. J. Fine tuning of immunometabolism for the treatment of rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatol* 13: 313-320, 2017.
- Rocha, R. A.; Bricarello, P. A.; Silva, M. B.; Houdijk, J. G. M.; Almeida, F. A.; Cardia, D. F. F.; et al. 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, 2011.
- Rodríguez, G. J. D.; Arece, G. J.; Olivares, J.; Alemán, Y. & Sánchez, C. Y. Antihelmínticos, resistencia y método FAMACHA. Experiencia cubana en ovinos. *Rev Salud Anim* 37: 57-63, 2015.

- Rodríguez-Diego, J. G.; Olivares-Orozco, J. L.; Sánchez-Castillejas, Y. & Arece-García, J. Evolución de los Helmintos. Rev Salud Anim 40: e10, 2018.
- Romero, N.; Areche, C.; Cubides-Cárdenas, J.; Escobar, Natalia.; García-Beltrán, O.; Simirgiotis, Mario J.; *et al.* In Vitro Anthelmintic Evaluation of *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, and *Pithecellobium dulce*: Fingerprint Analysis of Extracts by UHPLC-Orbitrap Mass Spectrometry. Molecules 25: 3002. 2020.
- Ruiz-Reyes, G. La electroforesis y la inmunofijación en el diagnóstico y clasificación de las gamapáticas monoclonales. Clínica y Laboratorio 26: 20, 2008.
- Schafer, A. S.; Leal, M. L. R.; Molento, M. B.; Aires, A. R.; Duarte, M. M. M. F.; Carvalho, F. B.; *et al.* Immune response of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and parenterally treated with a combination of zinc and copper. Small Rumin Res 123: 183-188, 2015.
- Seguro, G. H.; Cárdenas, L. G. & Burgos, P. R. Nutrientes e inmunidad. Nutr Clin Med 1: 1-19, 2016.
- Shaw, K. L.; Nolan, J. V.; Lynch, J. J.; Coverdale, O. R. & Gill, H. S. Effects of weaning, supplementation and gender on acquired immunity to *Haemonchus contortus* in lambs. Int J Parasitol 25:381-387, 1995.
- Simpson, H. V.; Umair, S.; Hoang, V. C. & Savoian, M. S. Histochemical study of the effects on abomasal mucins of *Haemonchus contortus* or *Teladorsagia circumcincta* infection in lambs. Vet Parasitol 226: 210- 221, 2016.
- Stuchlíková, Lucie. R.; Matoušková, P.; Vokřál, I.; Lamka, J.; Szotáková, Barbora.; Sečkařová, Anna.; *et al.* Metabolism of albendazole, ricobendazole and flubendazole in *Haemonchus contortus* adults: Sex differences, resistance-related differences and the identification of new metabolites. IJP: Drugs and Drug Resistance 8: 50-58, 2018.
- Sun, Z.H.; He, Z. X.; Tan, Z. L.; Liu, S. M.; Zhang, Q. L.; Han, X.F.; *et al.* Effects of energy and protein restriction on digestion and absorption in the gastrointestinal tract of Liuyang Black kids. Small Rumin Res 154: 13- 19, 2017.
- Sykes, A. R. & Greer A. W. Effects of parasitism on the nutrient economy of sheep: an overview. Aust J Exp Agric 43: 1393-1398, 2003.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Jacobs, D. E.; Aguilar-Caballero, A.; Sandoval-Castro, C.; Cob-Galera, L. & May-Martinez, M. Improving resilience against natural

- gastrointestinal nematode infections in browsing kids during the dry season in tropical Mexico. *Vet Parasitol* 135: 163-173, 2006.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Jacobs, D.E.; Aguilar-Caballero, A; Sandoval-Castro, C.; May-Martinez, M. & Cob-Galera, L. A. The effect of supplementary feeding on the resilience and resistance of browsing Criollo kids against natural gastrointestinal nematode infections during the rainy season in tropical Mexico. *Vet Parasitol* 124: 217-238, 2004.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Hoste, H.; Aguilar-Caballero, A. J.; Cámara-Sarmiento, R.; Alonso- Díaz, M. A.; *et al.* Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Rumin Res* 103: 28- 40, 2012.
- Toscan, G.; Cadore, C. G.; Limana, T. F. J.; Weber, A.; Palma, Heloisa. H.; Duarte, Marta. M. F.; *et al.* Immune response of sheep naturally infected with *Haemonchus* spp. on pastures with two different nutritional conditions. *Semina: Ciências Agrárias* 38: 809-820, 2017.
- Van Den Brom, R.; Moll, L.; Kappert, C. & Vellema, P. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Vet Parasitol* 209, 278-280, 2015.
- Westers, T.; Jones-Bitton, A.; Menzies, P.; Van Leeuwen, J.; Poljak, Z. & Peregrine, A. S. Comparison of targeted selective and whole flock treatment of periparturient ewes for controlling *Haemonchus* sp. on sheep farms in Ontario, Canada. *Small Rumin Res* 150: 102-110, 2017.
- Whitley, N. C.; Oha, S. H.; Lee, S. J.; Schoenian, S.; Kaplan, R. M.; Terrill, T. H.; *et al.* Impact of integrated gastrointestinal nematode management training for U.S. goat and sheep producers. *Vet Parasitol* 200: 271-275, 2014.
- Yap, P.; Utzinger, J.; Hattendorf, J. & Steinmann, P. Influence of nutrition on infection and re-infection with soil-transmitted helminths: A systematic review. *Parasites & Vectors* 7: 229, 2014.

This chapter was published in Heliyon on december 23, 2020.

**CAPÍTULO 3. HIGH ENERGY LEVELS IN THE DIET REDUCE THE  
PARASITIC EFFECT OF *HAEMONCHUS CONTORTUS* IN PELIBUEY  
SHEEP**

Yoel López-Leyva<sup>a</sup>, Roberto González-Garduño<sup>b, \*</sup>, Maximino Huerta-Bravo<sup>a</sup>,  
Rodolfo Ramírez-Valverde<sup>a</sup>, Glafiro Torres-Hernández<sup>c</sup>, Javier Arece-García<sup>d</sup>,  
Ma. Eugenia López-Arellano<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, México.

<sup>b</sup> Unidad Regional Universitaria Sursureste, Universidad Autónoma Chapingo. Teapa, Tabasco, México.

<sup>c</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Montecillo, Edo. de México, México.

<sup>d</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Universidad de Matanzas, Habana, Cuba.

<sup>e</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Mor., México.

\* Corresponding author.

*E-mail address:* rgonzalezg@chapingo.mx (R. González Garduño).

## Research article

# High energy levels in the diet reduce the parasitic effect of *Haemonchus contortus* in Pelibuey sheep



Yoel Lopez-Leyva<sup>a</sup>, Roberto Gonzalez-Garduño<sup>b,\*</sup>, Maximino Huerta-Bravo<sup>a</sup>,  
Rodolfo Ramírez-Valverde<sup>a</sup>, Glaforo Torres-Hernandez<sup>c</sup>, Javier Arece-García<sup>d</sup>,  
Ma. Eugenia Lopez-Arellano<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, México

<sup>b</sup> Unidad Regional Universitaria Sursureste, Universidad Autónoma Chapingo, Teapa, Tabasco, México

<sup>c</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Montecillo, Edo. de México, México

<sup>d</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Universidad de Matanzas, Cuba

<sup>e</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP, Jiutepec, Mor., México

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Nematode parasites

Immunoglobulins

Integral diet

Dietary protein

Dietary energy

## ABSTRACT

Nutritional aspects modulate the parasitological and immune response in infected sheep. The aim of the present study was to evaluate the parasitological and humoral immune response of Pelibuey sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* that were fed diets with two different energy (n % 12) and protein (n % 12) levels. Twenty-four Pelibuey lambs infected with *H. contortus* were evaluated over 12 weeks. An additional six animals were considered as a control group. Fecal egg count (FEC) was determined, in addition to packed cell volume (PCV), total plasma protein (TPP), and immunoglobulin levels (IgA, IgG, and IgM) by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Data were analyzed by repeated measures over time. The lambs that received a high-energy (HighE) diet had the lowest FEC ( $P < 0.01$ ) regardless of whether they received a high (HighP) or low (LowP) level of protein. The effect of energy level was also observed over time: FEC values decreased and PCV and TPP values increased. Higher immunoglobulin levels were obtained for females ( $P < 0.05$ ) than males yet, overall, the energy and protein levels of the diets did not affect the response of the immunoglobulins. Over time, however, an increase in IgG and IgM was observed, whereas the IgA level remained basal.

## 1. Introduction

*Haemonchus contortus* is a gastrointestinal nematode (GIN) that affects health of small ruminants. It is highly prevalent and pathogenic due to its hematophagous habit, causing gastroenteritis, anemia, weight loss, and even the death of susceptible animals (Burgunder et al., 2018; Torres-Acosta et al., 2012). It therefore causes economic losses to production systems that are exacerbated by the cost of the chemical products used for its control which, at the same time, often have low efficiency due to the increasing resistance of GIN to most anthelmintics (Callanan et al., 2018; Crook et al., 2016; Doyle et al., 2018). Several alternatives can be combined to compensate for the low efficiency of chemical products, including those that function by delaying or reducing the effects of anthelmintic resistance and improving the health conditions of animals (Arece-García et al., 2016; Campbell et al., 2017; Westers et al., 2017). One alternative, for example, is the development of natural resistance in

hosts through improving their immune response. In sheep, the production of antibodies such as IgA, IgG, and IgM in addition to eosinophilia, mastocytosis of the mucosa, and hyperplasia of globular cells forms part of the immune response (Mcrae et al., 2015).

Notably, nutritional aspects modulate the immune response. The researchers conclude that GIN resistance in hosts is enhanced by increasing the amount of protein in the diet rather than the amount of energy (Houdijk, 2012). However, ruminal fermentation modifies protein structure and quality, suggesting that supplementation with energy at the rumen level promotes the production of microbial protein. Also, microbial protein is considered to have a lower metabolizable value in the intestine, and the quality of amino acids is less compatible with immune proteins than dietary bypass proteins (Ceria et al., 2019). Therefore, it is necessary to continue to research the role of energy and protein supplementation in sheep's immune response to GIN infection. By this reason, the objective of the present study was to evaluate the

\* Corresponding author.

E-mail address: [rgonzalezg@chapingo.mx](mailto:rgonzalezg@chapingo.mx) (R. Gonzalez-Garduño).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05870>

Received 26 August 2020; Received in revised form 25 September 2020; Accepted 23 December 2020

2405-8440/Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

parasitological and humoral immune response of confined Pelibuey sheep experimentally infected with *H. contortus* that were fed a diet based on fermented sugarcane with two different energy and protein levels.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Location

The experiment was carried out in Salto de Agua municipality, Chiapas, Mexico, at 17° 34' N and 92° 29' W and 85 m above sea level. The regional climate is warm humid, with an annual average temperature of 26.6 °C and annual average rainfall of 3298 mm (CONAGUA, 2019).

### 2.2. Animal management

Thirty Pelibuey lambs (female ¼ 14, and male ¼ 16) five-month-old with an average initial live weight of 17 ± 5 kg were used. The main effects of two levels of protein (n ¼ 12, female ¼ 6, male ¼ 6) and energy (n ¼ 12, female ¼ 5 male ¼ 7) were evaluated in addition to a control group (n ¼ 6, 3 female, 3 male) in grazing. One week before the start of the experiment, all lambs were dewormed with Oxfenil® (Oxfendazole) at a ratio of 4.5 mg kg<sup>-1</sup> of live weight (LW) to ensure that they were free of GIN.

All lambs were confined in individual cages, assigned to an experimental diet (Table 1), and the control group remained at pasture to compare the parasitological and immune parameter between confined vs grazing lambs. The diet offered to the lambs consisted of sugarcane processed by solid fermentation. The ground cane was placed in a firm and flat area under the roof, then the other ingredients were added and stirred and the mixture spread in a layer of 10 cm high and allowed to ferment aerobically for 24 h. At the end, it was ensiled in 200 L containers for conservation for 8–12 days (Elias et al., 1990). To the high-energy (HighE) treatments, 12.4 % of molasses was added to increase the amount of energy in the diet. The animals were fed twice a day, once in the morning and once in the afternoon, and had free access to water.

From the integral diet, the dry matter (DM) was determined after maintaining the sample 24 h in an oven at 60 °C. The crude protein (CP) was determined with an elemental analyser Flash 2000 (Thermo Scientific, Italy) and the ashes quantified by calcination at 550 °C in a muffle (Thermo Scientific, USA). The energy was calculated using tables of chemical composition of foods (NRC, 2007).

An adaptation period to the experimental diets was carried out (15 days). After the first week of the study, the lambs that receive experimental diets were infected biweekly four times (day 42) with third-stage *H. contortus* larvae (L3) at doses of 200 L3 kg<sup>-1</sup> LW (Figure 1). L3 were obtained by coproculture (Corticelli and Lai, 1963) from two donor

lambs previously infected with an oral dose of 300 L3 from a local strain of *H. contortus*. The grazing group was naturally infected in paddocks composed of *Brachiaria humidicola* and *Paspalum conjugatum* grasses. The lambs in the latter group grazed 9 h per day.

The live weight of the animals was recorded every fifteen days. Each week, fecal samples were taken directly from the rectum of the lambs and fecal egg count (FEC) was determined using the McMaster technique (Thienpont et al., 2003) with a minimum sensitivity of 50 eggs per gram (EPG) of feces. Blood samples were taken every 15 days using tubes (Vacutainer, Becton Dickinson, USA) with ethylene diamine tetraacetate (EDTA) as anticoagulant by puncturing the jugular vein. Packed cell volume (PCV) was determined by microhematocrit technique and total plasma protein (TPP) through refractometry (g/dL). Another sample with coagulation accelerator was taken for serum immunoglobulin determination; serum was obtained by centrifugation at 1100 g for 25 min and subsequently stored at -20 °C until analysis.

The immunoglobulin levels (IgA, IgG, and IgM) were determined by means of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (iELISA) using crude antigens (CAg) of *H. contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* according to the procedure described by Gonzalez Garduno et al. (2017). The optical density (OD) of each serum was obtained by subtracting from each well the values of the wells without serum, which represented the non-specific binding of the conjugate and the activity of the Igs were expressed as a percentage to a positive standard serum (RPS) to calibrate the values among the plates.

The advisory committee of the postgraduate program in animal science approved the experiment protocol. The procedures were performed in accordance with the Mexican Official Standard guideline 051-ZOO-1995 for production, care and use of experimental animals.

### 2.3. Statistical analysis

To maximize the number of repetitions per treatment, a factorial treatment design was used. The main effects were energy with two levels, high (n ¼ 12) and low (n ¼ 12), and protein with two levels, high (n ¼ 12) and low (n ¼ 12), in addition, the interactions were studied. To reduce variance and approximate the FEC to a normal distribution, the values were transformed to base 10 logarithm (Log<sub>10</sub> FEC þ 1). A multivariate linear mixed-effect regression model was used under a design of repeated measures over time with the autoregressive structure (AR1) by presenting lower AIC and BIC values. The fixed effect of gender was included in the model. The variables were analyzed through the SAS mixed procedure (SAS, 2017) following the statistical model (Eq. (1)):

$$Y_{ijklmn} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta^* \rho_{jk} + \delta_1 + \gamma_m + \delta^* \epsilon_{ji} + \delta^* \rho_{ki} + \delta^* \epsilon^* \rho_{jki} + \epsilon_{ijklmn} \quad (1)$$

where  $Y_{ijklmn}$  ¼ the response of the variable.  $\mu$  ¼ the general mean.  $\alpha_i$  ¼ the gender of the animal (i ¼ female, male).  $\beta_j$  ¼ the effect of the j-th energy level (j ¼ high and low).  $\gamma_k$  ¼ the effect of the protein level (k ¼ high and low).  $\delta^* \rho_{jk}$  ¼ the interaction of energy and protein.  $\delta_1$  ¼ the effect of the l-th sampling (l ¼ 1, 2, 3 ... 11, 12).  $\gamma_m$  ¼ the random effect of the lamb.  $\delta^* \epsilon_{ji}$ ,  $\delta^* \rho_{ki}$ ,  $\delta^* \epsilon^* \rho_{jki}$  were the interactions, respectively; and  $\epsilon_{ijklmn}$  ¼ the error associated with repeated measurements. The separation of means was performed using the Lsmeans procedure, and Pearson correlations using the SAS software.

## 3. Results

Table 2 shows the main effects of the studied variables.

The FEC gradually increased over time ( $P < 0.01$ ), with values higher than 370 EPG at day 35. The energy level had a significant effect ( $P < 0.05$ ) on the FEC. The lambs that received the high-energy diets (HighE) had the lowest FEC and the highest PCV and TPP values regardless of the protein level, whereas the protein level did not influence the FEC. In the grazing lambs (control group), the FEC were

Table 1. Ingredients of the diets used in feeding Pelibuey lambs.

| Ingredients (%)   | Low Energy  |              | High Energy |              | Grazing Grz |
|-------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
|                   | Low protein | High protein | Low protein | High protein |             |
| Sorghum (%)       | 5           | 5            | 25          | 25           | 0           |
| Soybean (%)       | 3.5         | 11.5         | 1.0         | 8.5          | 0           |
| Sugarcane (%)     | 90          | 82           | 71.5        | 64.0         | 0           |
| Mineral mix (%)   | 0.5         | 0.5          | 0.5         | 0.5          | 0.03        |
| Urea (%)          | 1.0         | 1.0          | 1.0         | 1.0          | 0           |
| Molasses (%)      | 0           | 0            | 1.0         | 1.0          | 0           |
| Dry matter (%)    | 37          | 40           | 47          | 52           |             |
| Energy (Mcal/Kg)  | 2.6         | 2.6          | 3.0         | 3.01         |             |
| Crude protein (%) | 9.4         | 12.5         | 8.5         | 11.3         |             |
| Carbon (%)        | 1.50        | 2.00         | 1.48        | 1.80         |             |
| Ashes (%)         | 5.49        | 5.89         | 5.84        | 5.27         |             |

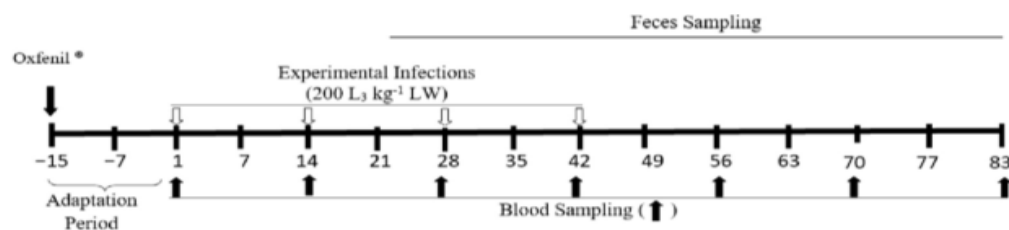


Figure 1. Experimental infections with gastrointestinal nematode larvae, blood and feces sampling in Pelibuey lambs. LW: Live weight.

higher than 1000 EPG and similar to those of the lambs that received low levels of energy.

The FEC of the lambs that received the high-energy diets ( $P = 0.05$ ) were lower than those that received the low-energy diets (Figure 2) from day 56 post infection until the end of the study. After 42 days, an increase in PCV was observed for the animals that received the high-energy diets compared to the low-energy diets (Figure 3). The TPP (Figure 4) gradually decreased over time, especially in the low-energy treatments. This effect was evident from day 28 post infection, at which point the values fell below the threshold for healthy animals. On the other hand, the high-energy diets led to an increase in the TPP from days 42–70.

In the case of live weight, the lambs that received the low-energy diets had an equal or lesser weight than the grazing lambs. After 42 days, an increase in weight was observed in the lambs that received the high-energy diets (Figure 5).

With respect to IgA, no differences were observed among treatments ( $P > 0.05$ ). The LowE-LowP group had a higher level ( $P > 0.05$ ) of IgG compared to the grazing group (Grz) in response to both antigens used. IgM was only affected by the treatments ( $P < 0.05$ ): The lambs that received the HighE-HighP diet had the lowest levels compared to the LowE-LowP and Grz groups (Table 3).

IgG gradually increased until day 42 and then sharply decreased by day 56 before slightly increasing until day 83 (Figure 6). On the other hand, IgM maintained high levels after day 42 (Figure 7), and IgA was found at levels lower than 20% throughout the study period.

#### 4. Discussion

The high FEC observed over time in all lambs indicates the successful establishment of *H. contortus* in response to experimental infection. The

Table 2. Main effects and interaction of fecal egg count (FEC), live weight (LW), packed cell volume (PCV), and total plasma protein (TPP) with respect to gender, sampling days, and treatments.

|                      | N  | FEC                |     | Live weight        |      | PCV                |      | TPP               |      |
|----------------------|----|--------------------|-----|--------------------|------|--------------------|------|-------------------|------|
|                      |    | Mean               | SE  | Mean               | SE   | Mean               | SE   | Mean              | SE   |
| Gender               |    | **                 |     | **                 |      | **                 |      | **                |      |
| Female               | 14 | 731 <sup>b</sup>   | 102 | 20.8 <sup>b</sup>  | 0.47 | 26.1 <sup>a</sup>  | 0.5  | 5.7 <sup>a</sup>  | 0.1  |
| Male                 | 16 | 1597 <sup>a</sup>  | 255 | 27.8 <sup>a</sup>  | 0.65 | 24.3 <sup>b</sup>  | 0.5  | 5.9 <sup>a</sup>  | 0.08 |
| Sampling day         |    | **                 |     | **                 |      | **                 |      | **                |      |
| 1                    | 30 | 0 <sup>d</sup>     | 0   | 19.9 <sup>c</sup>  | 1.02 | 25.8 <sup>b</sup>  | 1.01 | 6.3 <sup>a</sup>  | 0.07 |
| 28                   | 30 | 50 <sup>d</sup>    | 6   | 22.6 <sup>bc</sup> | 1.13 | 28.7 <sup>a</sup>  | 0.5  | 5.9 <sup>ab</sup> | 0.08 |
| 35                   | 30 | 378 <sup>c</sup>   | 97  | -                  | -    | -                  | -    | -                 | -    |
| 42                   | 30 | 545 <sup>c</sup>   | 102 | 23.9 <sup>ab</sup> | 1.19 | 25.6 <sup>bc</sup> | 0.8  | 5.5 <sup>c</sup>  | 0.1  |
| 49                   | 30 | 729 <sup>bc</sup>  | 131 | -                  | -    | -                  | -    | -                 | -    |
| 56                   | 30 | 860 <sup>bc</sup>  | 225 | 26.1 <sup>a</sup>  | 1.33 | 24.1 <sup>bc</sup> | 0.7  | 5.8 <sup>b</sup>  | 0.1  |
| 63                   | 30 | 1010 <sup>bc</sup> | 377 | 26.7 <sup>a</sup>  | 1.43 | -                  | -    | -                 | -    |
| 70                   | 30 | 1495 <sup>b</sup>  | 389 | 26.5 <sup>a</sup>  | 1.37 | 24.2 <sup>bc</sup> | 0.7  | 6.1 <sup>ab</sup> | 0.2  |
| 77                   | 30 | 1545 <sup>b</sup>  | 299 | -                  | -    | -                  | -    | -                 | -    |
| 83                   | 30 | 2898 <sup>a</sup>  | 846 | 26.3 <sup>a</sup>  | 1.43 | 23.1 <sup>a</sup>  | 1.03 | 5.3 <sup>a</sup>  | 0.1  |
| Energy               |    | **                 |     | **                 |      | **                 |      | **                |      |
| High energy (HighE)  | 12 | 680 <sup>b</sup>   | 91  | 26.2 <sup>a</sup>  | 0.9  | 26.3 <sup>a</sup>  | 0.4  | 6.1 <sup>a</sup>  | 0.05 |
| Low energy (LowE)    | 12 | 1653 <sup>a</sup>  | 259 | 22.4 <sup>b</sup>  | 0.6  | 24.2 <sup>b</sup>  | 0.6  | 5.5 <sup>b</sup>  | 0.1  |
| Protein              |    | **                 |     | **                 |      | *                  |      | *                 |      |
| High protein (HighP) | 12 | 1265 <sup>a</sup>  | 279 | 25.4 <sup>a</sup>  | 0.7  | 26.0 <sup>a</sup>  | 0.6  | 5.9 <sup>a</sup>  | 0.08 |
| Low protein (LowP)   | 12 | 1118 <sup>a</sup>  | 121 | 23.2 <sup>b</sup>  | 0.8  | 24.4 <sup>b</sup>  | 0.5  | 5.7 <sup>b</sup>  | 0.1  |
| Interaction          |    | *                  |     | **                 |      | **                 |      | **                |      |
| LowE-LowP            | 6  | 1269 <sup>b</sup>  | 178 | 20.6 <sup>a</sup>  | 0.8  | 23.4               | 0.7  | 5.4               | 0.1  |
| LowE-HighP           | 6  | 2127 <sup>a</sup>  | 529 | 24.5 <sup>a</sup>  | 0.7  | 25.1               | 0.9  | 5.7               | 0.1  |
| HighE-LowP           | 6  | 936 <sup>bc</sup>  | 156 | 26.2 <sup>a</sup>  | 1.3  | 25.6               | 0.6  | 6.0               | 0.08 |
| HighE-HighP          | 6  | 424 <sup>c</sup>   | 75  | 26.2 <sup>a</sup>  | 1.3  | 27.0               | 0.6  | 6.2               | 0.09 |
| Grz                  | 6  | 1621 <sup>ab</sup> | 301 | 24.6 <sup>a</sup>  | 0.9  | 25.4               | 1.0  | 5.8               | 0.1  |
| Standard deviation   |    | 1615               |     | 5.04               |      | 3.25               |      | 0.5               |      |

N: Number of lambs. Different letters in each study factor in the same column are significantly different ( $P = 0.05$ ). E: Energy. P: Protein. Grz: Grazing. SE: Standard error.

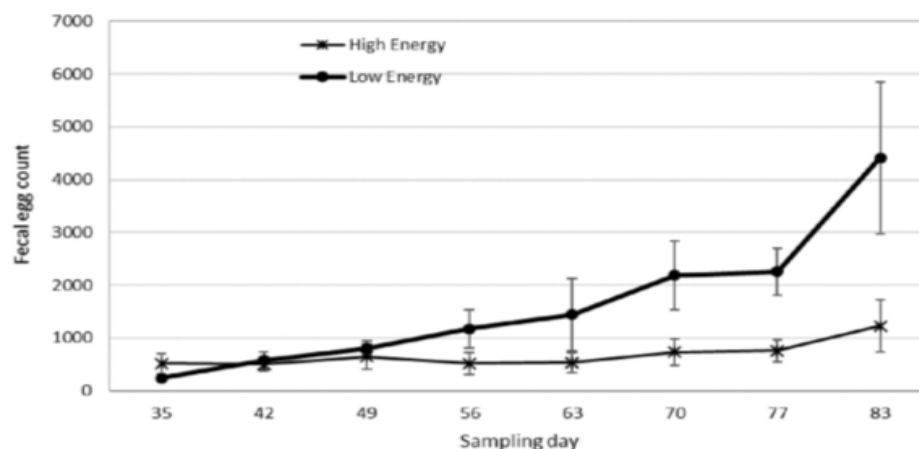


Figure 2. Effect of diet energy level on nematode fecal egg count in Pelibuey sheep during the study period.

gradual increase in the FEC after the prepatent period suggests an additive effect of the weekly infections and, therefore, an increase in the number of adult nematode females in oviposition (Arece-Garcia et al., 2014).

Energy supply is also essential for the development of immunological mechanisms, as suggested by Colditz (2008). The effect of the energy level on growing lambs was shown herein given that the high-energy diet was associated with lower FEC regardless of the protein level. The results for the diet with the lowest level of crude protein (CP, 9%) confirmed that the main limiting element was energy. Even so, at this CP level, it was possible to maintain the immunological levels of the lambs, enabling a degree of GIN control. At the same time, parasitism increases the protein need for maintenance and repair of damaged tissues (Khan et al., 2012). Furthermore, in infected animals, protein utilization is affected, and lower weight gains are achieved (Greer et al., 2009). So, more energy is required to maintain a live weight increase similar to that of non-infected animals.

The lambs fed with the high-energy diets had high PCV values and the highest TPP levels compared to the lambs that received the low-energy diets. This finding coincides with other study that highlight the importance of high energy levels in the diet for defense against GIN (Colditz, 2008). However, some authors have also show the importance of proteins and adequate energy balance for correctly activating defense mechanisms (Torres-Acosta et al., 2012; Whitley et al., 2014). Ultimately, it appears that diets with both a high level of energy and protein have a positive impact on the immunological status of animals.

With respect to other studies, the PCV values found herein were higher compared to those found for sheep (18%) naturally infected with *H. contortus* in Iraq (Awad et al., 2016). As mentioned, the PCV values found herein were closely related with the energy and protein content of the diets and the time passed since initial infection (sampling days) due to the effects of parasitism. The highest PCV and TPP values were found in the lambs that received the high protein diets, although this was also observed for the high-energy diets above a certain threshold of health impairment (TPP  $\geq$  6.0 g/dL and PCV  $\geq$  20%). The low PCV and TPP values observed in the lambs that consumed the low-energy diets could be due to the establishment of parasites and damage caused by them at the gastrointestinal mucosal level. In addition, the decrease in these values after 42 days could indicate that the low-energy diets were not sufficient for tissue repair or for the complete establishment of defense mechanisms. Therefore, the infection continued its course, resulting in a decrease in both PCV and TPP over time.

Other study show that the hematophagous behavior and hemolytic activity of *H. contortus* affect the mucosa of the abomasum (Emery et al., 2016), leading to a considerable loss of protein. In addition, the synthesis

of TPP is related with the humoral immunological system, which was activated due to continuous infection with *H. contortus*. However, it may not have been possible to completely compensate for protein loss even with the high-energy diet evaluated herein.

The serum levels of the three immunoglobulins analyzed herein were previously found to differ in their response to primary experimental infection with GIN (Gonzalez-Garduño et al., 2018). In the present study, the low IgA response to the *H. contortus* crude antigen appears to be independent of the energy and protein levels of the diets. Several studies have suggested that IgA has little value as a marker of *H. contortus* infection (Snoeck et al., 2006), although other studies have suggested it as a marker of susceptibility to GIN infections (Shaw et al., 2012). However, the IgA levels found herein were below the range (10%–15%)

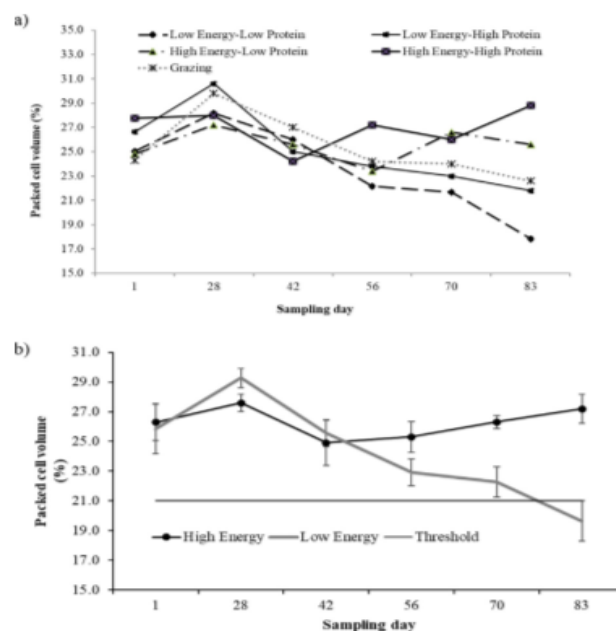


Figure 3. Packed cell volume (PCV) of Pelibuey lambs a) classified in four experimental groups according to diet energy and protein level including the grazing group. b) Principal effect of dietary energy level on PCV not including the grazing group.

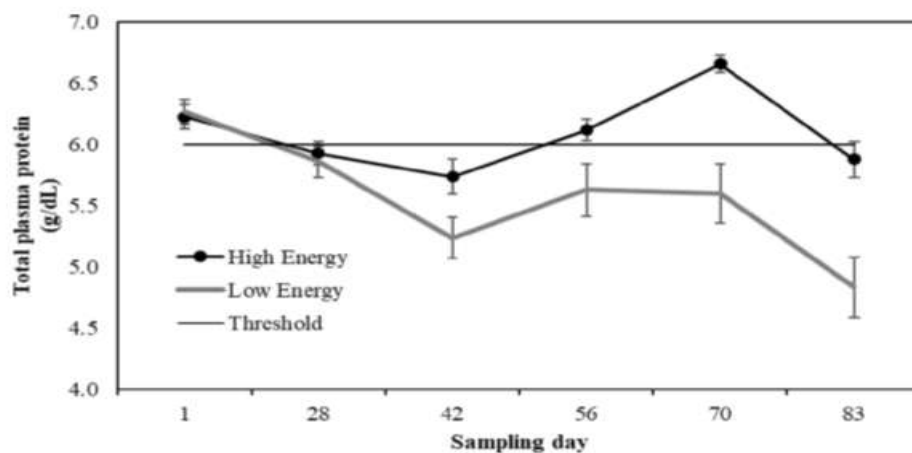


Figure 4. Effect of dietary energy level on total plasma protein in Pelibuey sheep during the study period.

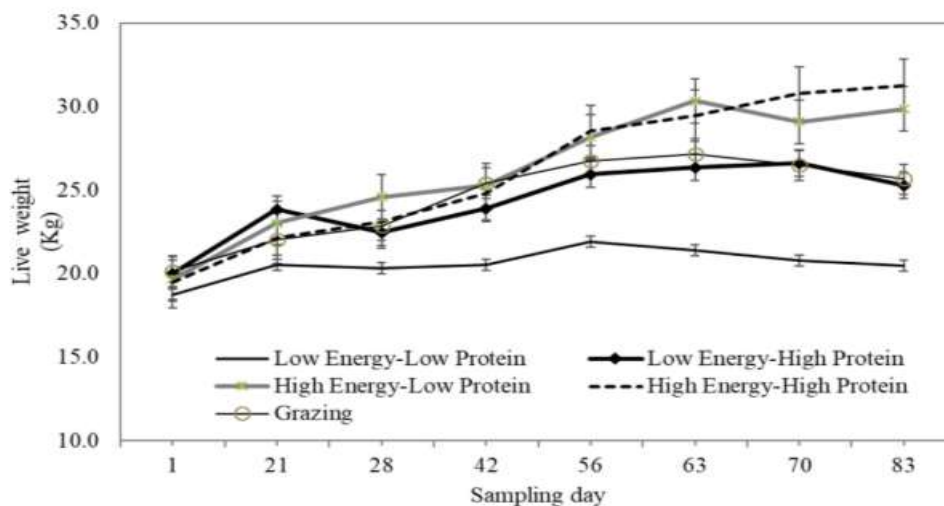


Figure 5. Effect of dietary energy level on the live weight of Pelibuey sheep during the study period.

indicated for growing lambs (Gonzalez-Garduno et al., 2018). It may be that the IgA response occurs locally rather than at the circulating level or in external secretions given that it has functions in saliva, milk, tears, bronchial mucous membranes, genital and urinary organs, and gastrointestinal tracts due to its direct protective role of mucosae, especially in

the abomasum and jejunum (McClure, 2008). In addition, IgA can be produced by plasma cells, in the differentiation of B cells by dendritic cells against parasite antigens, and in Peyer's patches at the intestinal level. Accordingly, its presence could be detected both locally and peripherally.

Table 3. Immunoglobulin percentages in Pelibuey sheep fed two energy and protein levels with respect to a positive control (%) and effect of animal gender.

| Antibody                               | N  | Treatment         |                    |                    |                    |                   | Gender            |                   | SE  |
|----------------------------------------|----|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----|
|                                        |    | LowE-LowP         | LowE-HighP         | HighE-LowP         | HighE-HighP        | Grz               | Female            | Male              |     |
| Haemonchus contortus antigen           |    |                   |                    |                    |                    |                   |                   |                   |     |
| IgA                                    | 36 | 11.9 <sup>a</sup> | 8.7 <sup>a</sup>   | 8.7 <sup>a</sup>   | 8.8 <sup>a</sup>   | 13.0 <sup>a</sup> | 11.9 <sup>a</sup> | 8.0 <sup>b</sup>  | 1.7 |
| IgG                                    | 31 | 68.4 <sup>a</sup> | 50.1 <sup>ab</sup> | 46.7 <sup>ab</sup> | 52.9 <sup>ab</sup> | 35.9 <sup>b</sup> | 37.1 <sup>b</sup> | 65.6 <sup>a</sup> | 7.2 |
| IgM                                    | 35 | 72.2 <sup>a</sup> | 67.3 <sup>ab</sup> | 67.3 <sup>ab</sup> | 57.4 <sup>b</sup>  | 75.6 <sup>a</sup> | 71.0 <sup>a</sup> | 63.4 <sup>a</sup> | 4.2 |
| Trichostrongylus colubriformis antigen |    |                   |                    |                    |                    |                   |                   |                   |     |
| IgA                                    | 32 | 7.0 <sup>ab</sup> | 5.5 <sup>ab</sup>  | 3.5 <sup>b</sup>   | 5.5 <sup>ab</sup>  | 9.0 <sup>a</sup>  | 8.0 <sup>a</sup>  | 4.2 <sup>b</sup>  | 1.1 |
| IgG                                    | 30 | 57.3 <sup>a</sup> | 40.6 <sup>ab</sup> | 45 <sup>ab</sup>   | 34.3 <sup>ab</sup> | 28.0 <sup>b</sup> | 33.6 <sup>a</sup> | 49.5 <sup>a</sup> | 7.1 |

SE: Standard error. N: Number of samples. Different letters in treatment in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ ). Different letters in gender in the same row are significantly different ( $P < 0.05$ ).

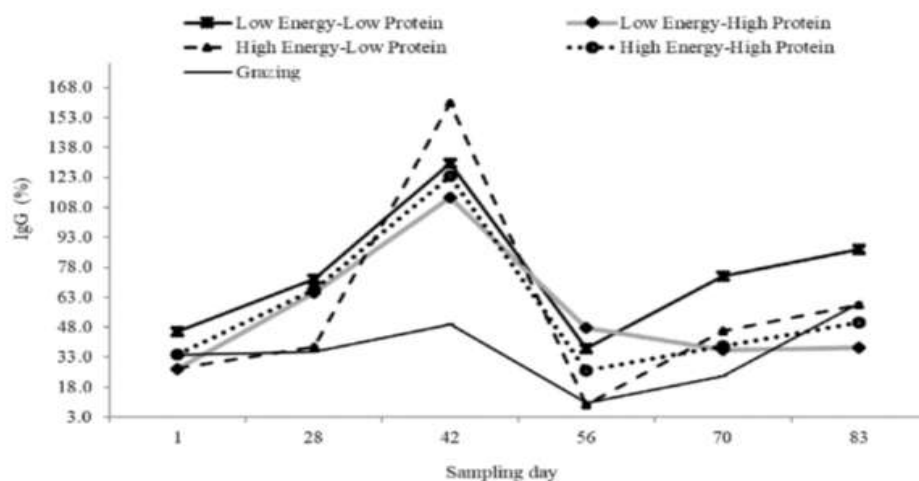


Figure 6. IgG level (%) in response to a crude *Haemonchus contortus* antigen with respect to a positive control (grazing) in Pelibuey sheep.

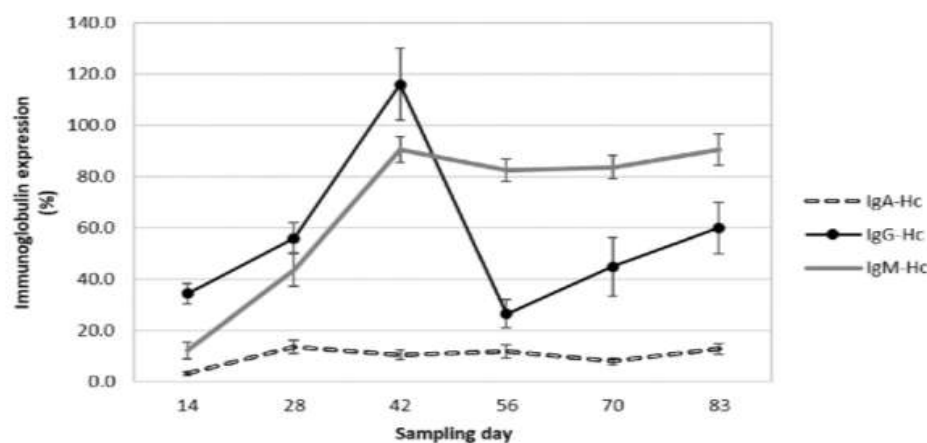


Figure 7. Effect of sampling days on the performance of IgA, IgG, and IgM in response to a crude *H. contortus* (Hc) antigen with respect to a positive control (%) in Pelibuey lambs.

Previously, IgM and IgG levels have been correlated with parasite burdens in immune sheep (Williams et al., 2010). Specifically, IgM has been described as the first immunoglobulin produced in the primary response to an antigen. Similarly, in the present study, its values gradually increased in response to weekly infections. Finally, it has been described along with IgA to play an important accessory role as a secretory immunoglobulin that acts on mucosal surfaces, and its presence in the gastrointestinal mucosa would be justified given the damage caused by *H. contortus* (Emery et al., 2016).

In the case of IgG, it has high affinity for specific antibody receptors (Fc receptors) and represents about 80% of the total immunoglobulins present in serum. It is considered one of the best markers for *H. contortus*-caused parasitism (Mcrae et al., 2015). The variability in the IgA, IgG, and IgM levels over time could be explained by the particular characteristics of each immunoglobulin, such as affinity to antigens and serum concentrations. For example, the increase in IgG and IgM from 14 days to 42 days post infection is a normal response to infection (Mcrae et al., 2015). Meanwhile, in the present study, IgM increased sharply until day 42, and this increase was maintained until day 83-post infection. In this case, the performance of IgM indicates that an acute response was maintained, possibly because animals were subjected to weekly infections until day 42. Therefore, IgM differentially responded to the

antigen replacements in comparison to the other isotypes. Other studies on lambs infected with *H. contortus* found an increase in IgA, IgG, and IgM levels over the course of 70 days (Schafer et al., 2015).

## 5. Conclusions

Lower FEC and higher PCV and TPP values were observed in the lambs fed with high-energy diets compared to the low-energy diets regardless of the protein level. The IgG and IgM levels increased over time post infection. On the other hand, the energy and protein levels in the diets did not affect the response of the evaluated immunoglobulins in the first infection in lambs.

## Declarations

### Author contribution statement

Yoel Lopez-Leyva: Performed the experiments; Wrote the paper.  
Roberto Gonzalez-Garduno, Glafro Torres-Hernandez, Javier Arece-Garcia: Conceived and designed the experiments; Wrote the paper.  
Maximino Huerta-Bravo: Analyzed and interpreted the data; Contributed reagents, materials, analysis tools or data.

Rodolfo Ramírez-Valverde: Analyzed and interpreted the data; Wrote the paper.

Ma. Eugenia Lopez-Arellano: Contributed reagents, materials, analysis tools or data; Wrote the paper.

#### Funding statement

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

#### Data availability statement

Data included in article.

#### Competing interest statement

The authors declare no conflict of interest.

#### Additional information

No additional information is available for this paper.

#### Acknowledgements

The author, Yoel Lopez Leyva is a PhD student of the Program of Animal Production of the Universidad Autonoma Chapingo and thanks the CONACyT Program for the scholarship.

#### References

- Arece-García, J., Lopez-Leyva, Y., Gonzalez-Garduño, R., Torres-Hernandez, G., 2014. Evaluation of strategic and selective anthelmintic treatments on Pelibuey ewes in Cuba. *Colomb. Ciencias Pecu.* 27, 273–281.
- Arece-García, J., Lopez-Leyva, Y., Gonzalez-Garduño, R., Torres-Hernandez, G., Rojo-Rubio, R., Marie-Magdeleine, C., 2016. Effect of selective anthelmintic treatments on health and production parameters in Pelibuey ewes during lactation. *Trop. Anim. Health Prod.* 48.
- Awad, A.H., Ali, A.M., Hadree, D.H., 2016. Some haematological and biochemical parameters assessments in sheep infection by *Haemonchus contortus*. *Tikrit J. Pure Sci.* 21, 11–15.
- Burgunder, J., Petzelkova, J.K., Modry, D., Kato, A., Jurankova, J., MacIntos, J.J.M., 2018. Fractal measures in activity patterns: do gastrointestinal parasites affect the complexity of sheep behaviour? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 205, 44–53.
- Callanan, M.K., Habibi, S.A., Law, W.J., Nazareth, K., Komuniecki, R.L., Forrester, S.G., 2018. Investigating the function and possible biological role of an acetylcholine-gated chloride channel subunit (ACC-1) from the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 8, 526–533.
- Campbell, B.J., Pullin, A.N., Parris-Garcia, M.D., McCutcheon, J.S., Lowe, G.D., Campler, M.R., Fluharty, F.L., 2017. The effects of alternative weaning strategies on lamb health and performance. *Small Rumin. Res.* 156, 57–65.
- Ceriac, S., Archimede, H., Feuillet, D., Felicite, Y., Giorgi, M., Bambou, J.C., 2019. Supplementation with rumen-protected proteins induces resistance to *Haemonchus contortus* in goats. *Sci. Rep.* 9, 1–10.
- Colditz, I.G., 2008. Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunol.* 30, 63–70.
- CONAGUA, 2019. Servicio Meteorológico Nacional. Normales Climatológicas [WWW Document]. TXT. [http://smn.cna.gob.mx/climatologia/normales/estacion/tab/NO\\_RMAL27068](http://smn.cna.gob.mx/climatologia/normales/estacion/tab/NO_RMAL27068).
- Corticelli, B., Lai, M., 1963. Studies on the technique of culture of infective larvae of gastrointestinal strongyles of cattle. *Acta Med. Vet. Napoli* 9, 347–357.
- Crook, E.K., O'Brien, D.J., Howell, S.B., Storey, B.E., Whitley, N.C., Burke, J.M., Kaplan, R.M., 2016. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the mid-Atlantic region and comparison of in vivo and in vitro detection methods. *Small Rumin. Res.* 149, 89–96.
- Doyle, S.R., Laing, R., Bartley, D.J., Britton, C., Chaudhry, U., Gilleard, J.S., Holroyd, N., Mable, B.K., Maitland, K., Morrison, A.A., Tsit, A., Tracey, A., Berriman, M., Devaney, E., Cotton, J.A., Sargison, N.D., 2018. A genome resequencing-based genetic map reveals the recombination landscape of an outbreak parasitic nematode in the presence of polyploidy and polyandry. *Genome Biol. Evol.* 10, 396–409.
- Elias, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J., Quintana, L., 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido (saccharima). *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 24, 1–12.
- Emery, D.L., Hunt, P.W., Le Jambre, L.F., 2016. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? *Int. J. Parasitol.* 46, 755–769.
- Gonzalez-Garduño, R., Mendoza-de Gíves, P., Lopez-Arellano, M.E., Aguilar-Marcelino, L., Torres-Hernandez, G., Ojeda-Robertos, N.F., Torres-Acosta, J.F.J., 2018. Influence of the physiological stage of Blackbelly sheep on immunological behaviour against gastrointestinal nematodes. *Exp. Parasitol.* 193, 20–26.
- Gonzalez Garduño, R., Lopez Arellano, M.E., Conde Felipe, M.M., Mendoza de Gíves, P., Aguilar Marcelino, L., Jaso Diaz, G., 2017. Immune and haematological parameters of Blackbelly ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Colomb. Ciencias Pecu.* 30, 219–230.
- Greer, A.W., Sedcole, R.J., Jay, N.P., McNulty, R.W., Green, R.S., Stankiewicz, M., Sykes, A.R., 2009. Protein supply influences the nutritional penalty associated with the development of immunity in lambs infected with *Taeniosstrongylus colubriformis*. *Animal* 3, 437–445.
- Houdijk, J.G.M., 2012. Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Rumin. Res.* 103, 41–49.
- Khan, F.A., Sahoo, A., Sonawane, G.G., Karim, S.A., Dhakad, S., Pareek, A.K., Tripathi, B.N., 2012. Effect of dietary protein on responses of lambs to repeated *Haemonchus contortus* infection. *Livest. Sci.* 150, 143–151.
- McClure, S.J., 2008. How minerals may influence the development and expression of immunity to endoparasites in livestock. *Parasite Immunol.* 30, 89–100.
- Mcrae, K.M., Stear, M.J., Good, B., Keane, O.M., 2015. The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. *Parasite Immunol.* 37, 605–613.
- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press, Washington, DC.
- SAS, 2017. SAS/STAT Users Guide, Release 6. Ed. Cary, NC, USA.
- Schafer, A.S., Leal, M.L.R., Molento, M.B., Aires, A.R., Duarte, M.M.M.F., Carvalho, F.B., Tonin, A.A., Schmidt, L., Flores, E.M.M., Franca, R.T., Grandi, T.H., Minho, A., Krause, A., Antoniazzi, A.Q., Lopes, S.T.A., 2015. Immune response of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and parentally treated with a combination of zinc and copper. *Small Rumin. Res.* 123, 183–188.
- Shaw, R.J., Morris, C.A., Wheeler, M., Tate, M., Sutherland, I.A., 2012. Salivary IgA: a suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. *Vet. Parasitol.* 186, 109–117.
- Snoeck, V., Peters, I.R., Cox, E., 2006. The IgA system: a comparison of structure and function in different species. *Vet. Res.* 37, 455–467.
- Thienpont, D., Rochette, F., Vanparijs, O.F.J., 2003. Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination, Third. ed. Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium.
- Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Aguilar-Caballero, A.J., Camara-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 conditions. *Small Rumin. Res.* 103, 28–40.
- Westers, T., Jones-Bitton, A., Menzies, P., VanLeeuwen, J., Poljak, Z., Peregrine, A.S., 2017. Comparison of targeted selective and whole flock treatment of periparturient ewes for controlling *Haemonchus* sp. on sheep farms in Ontario, Canada. *Small Rumin. Res.* 150, 102–110.
- Whitley, N.C., Oh, S.-H., Lee, S.J., Schoenian, S., Kaplan, R.M., Storey, B., Terrill, T.H., Mobinid, S., Burke, J.M., Miller, J.E., Perdue, M.A., 2014. Impact of integrated gastrointestinal nematode management training for U.S. goat and sheep producers. *Vet. Parasitol.* 200, 271–275.
- Williams, A.R., Palmer, D.G., Williams, I.H., Vercos, P.E., Emery, D.L., Karlsson, L.-J.E., 2010. Relationships between immune indicators of parasitic gastroenteritis, nematode burdens and faecal dry matter in sheep. *Anim. Prod. Sci.* 50, 219–227.

## **CAPÍTULO 4. ESTADO REPRODUCTIVO Y RELACIÓN DE LA ENERGÍA- PROTEÍNA EN PARÁMETROS PARASITOLÓGICOS Y HEMATOLÓGICOS DE OVEJAS PELIBUEY EN PASTOREO**

Yoel López-Leyva<sup>a</sup>, Roberto González-Garduño<sup>b,\*</sup>, Maximino Huerta-Bravo<sup>a</sup>,  
Rodolfo Ramírez-Valverde<sup>a</sup>, Glafiro Torres-Hernández<sup>c</sup>, Javier Arece-García<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo,  
Estado de México, México.

<sup>b</sup> Unidad Regional Universitaria Sursureste, Universidad Autónoma Chapingo.  
Teapa, Tabasco, México.

<sup>c</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Montecillo, Edo. de México,  
México.

<sup>d</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Universidad de  
Matanzas, Habana, Cuba.

### **Resumen**

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del estado reproductivo y niveles de energía y proteína en la dieta, sobre la respuesta parasitológica y hematológica de ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo, se utilizaron 48 ovejas Pelibuey con edades entre 3 y 5 años, y un peso vivo aproximado de  $31 \pm 5$  kg. Se conformaron cuatro grupos de 12 animales. Las dietas se elaboraron con caña de azúcar y dos niveles de energía (alta y baja) y dos niveles de proteína (alta y baja). Se colectaron muestras de heces directamente del recto para determinar el número de huevos por gramo de heces (HPG) de nematodos gastrointestinales (NGI). Se tomaron muestras de sangre para determinar el volumen celular aglomerado (VCA) y eosinófilos periféricos (EOS). Se realizó una comparación entre ovejas en producción y ovejas vacías. Para maximizar el número de repeticiones por tratamiento, se formuló un diseño de tratamientos factorial, donde los efectos principales fueron la energía con dos niveles, alta energía (N=24) y baja energía (N=24) y el otro efecto principal fue la proteína con los niveles alto (N=24) y bajo (N=24). Para eliminar la asimetría y aproximar el HPG a una distribución normal los valores fueron transformados a logaritmo ( $\log \text{HPG}+1$ ). Los valores del HPG y VCA, mostraron un mejor comportamiento ( $p < 0.05$ ) en los animales con alto nivel de proteína en la dieta. Se detectaron desventajas muy marcadas ( $p < 0.05$ ) en los HPG, el porcentaje del VCA y EOS, para ovejas en producción comparadas con ovejas vacías ( $\text{HPG} \leq 1000$  huevos  $\text{g}^{-1}$  heces,  $\text{VCA} \geq 25\%$  y  $\text{EOS} \geq 600 \times 10^3 \mu\text{L}$  para ovejas vacías vs  $\text{HPG} \geq 1000$  huevos  $\text{g}^{-1}$  heces,  $\text{VCA} \leq 25\%$  y  $\text{EOS} \leq 600 \times 10^3 \mu\text{L}$  para ovejas en producción). Se concluye

que la suplementación con niveles por encima de los requerimientos de proteína mejora la respuesta parasitológica y hematológica de ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo. El estado reproductivo es el factor que más afecta la respuesta de ovejas Pelibuey contra los NGI. Las ovejas vacías mantuvieron cierta resiliencia y resistencia ante los parásitos gastrointestinales en comparación con las ovejas en producción.

**Palabras clave:** ovejas Pelibuey, nematodos gastrointestinales, estado reproductivo

## **Introducción**

La parasitosis por nematodos gastrointestinales (NGI) es considerada una de las enfermedades de mayor importancia en la producción de ovinos en pastoreo (Torres-Acosta et al., 2019) debido a la alta prevalencia de *Haemonchus contortus*, el cual es un nematodo que causa pérdida de peso, anemia severa, ulceraciones, congestión de la mucosa abomasal, engrosamiento de las paredes, focos hemorrágicos e hiperplasia de las glándulas con infiltración de linfocitos y eosinófilos, deterioro de la condición corporal general y alta mortalidad en ovinos susceptibles (Mavrot, Hertzberg, & Torgerson, 2015; Notter, Burke, Miller, & Morgan, 2017).

Las ovejas durante el último tercio de la gestación y las primeras semanas de lactancia, muestran reducción de la inmunidad (Beasley, Kahn, & Windon, 2010), lo que se asocia con los eventos propios del parto y la lactancia (Romero, 2014), resultando en proporcionar condiciones ambientales del hospedero para el desarrollo de la fase parasitaria de los NGI y como consecuencia una alta fecundidad de los NGI, por ejemplo, incremento en el número de HPG y un incremento en la susceptibilidad a otras infecciones (Hamer et al., 2019). A este fenómeno se le denomina, elevación periparto, alza de primavera y/o lactación, El proceso consiste en un aumento transitorio del conteo de HPG de nematodos (Goldberg, Ciappesoni, DeBarbieri, Rodríguez, & Montossi, 2011). Por esta situación, en el periparto las ovejas son las principales responsables de la contaminación de los potreros con huevos de NGI (Hamer et al., 2019). También

durante este periodo, las ovejas muestran cambios fisiológicos y metabólicos que incrementan considerablemente sus requisitos de nutrientes, para satisfacer la mayor demanda en producción de leche y la alimentación de una o más crías (Castillos & Hernández, 2016). En este sentido las ovejas con más de una cría tienen mayor HPG que las de parto simple (Mahieu & Aumont, 2007). En este momento, el manejo nutricional es vital para que las ovejas puedan ser capaces de superar esta fase crítica y asegurar los mecanismos de defensa ante patógenos infecciosos y parasitarios, además de lograr una cría fuerte y saludable (Werne et al., 2013).

El metabolismo proteico es el más afectado durante la infección con NGI por la disminución de hematocrito y la necesidad de reparar el tejido que ha sido afectados (Cériac et al., 2017). La suplementación con proteína en la ración puede ayudar a mejorar la susceptibilidad y resiliencia del huésped contra los parásitos, aunque no necesariamente en el establecimiento inicial del parásito. Sin embargo, la respuesta tan variable de los animales a la infección con NGI parece estar relacionada con la cantidad y la calidad de la proteína suplementada (Houdijk, Jackson, Coop, & Kyriazakis, 2006). Así, la proporción de proteínas con sobrepaso en cabras se observa reducción en el CFH de *H. contortus* (Cériac et al., 2019). Sin embargo, la suplementación de proteína debe ir acompañada de una fuente de energía disponible ya que, con la activación de las células del sistema inmune, se produce una reprogramación metabólica necesaria para hacer frente a las necesidades energéticas, que implica la producción de ATP y de intermediarios biosintéticos necesarios para permitir la proliferación y ejercer sus funciones efectoras (Colditz, 2008). La compleja interacción entre la reprogramación metabólica e inmunidad proporciona una amplia comprensión en el funcionamiento del sistema inmunitario en la salud y en la enfermedad (O'Neill, Kishton, & Rathmell, 2016).

Resultados obtenidos por Méndez-Ortíz et al. (2019) en un meta-análisis basado en estudios con ovinos, sugieren una interacción importante entre el parasitismo

y el consumo de energía y proteína de la dieta. Estos autores encontraron que los animales infectados requieren más energía para mantener un incremento de pesos vivo similar a los no infectados y también señalan que se requiere de un suministro adicional de energía, además de la proteína, para el desarrollo de los mecanismos inmunológicos. Lo anterior es similar a lo sugerido por Toscan et al. (2017). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar la respuesta parasitológica y hematológica de ovejas Pelibuey en pastoreo durante el periparto, suplementadas con dos niveles de energía y proteína en la dieta.

## **Materiales y métodos**

### *Localización*

El estudio se desarrolló durante los meses de octubre a diciembre de 2019 en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes (EPPF) “Indio Hatuey” de la Universidad de Matanzas. El sitio está localizado en la provincia de Matanzas, Cuba y está ubicado en los 22° 48' 7" de latitud Norte y los 81° 1' de longitud Oeste, y a una altitud de 19.01 m.

### *Manejo de las ovejas*

Se utilizaron 48 ovejas Pelibuey con edades entre 3 a 5 años, y un peso vivo aproximado de  $31 \pm 5$  kg. Se conformaron de manera aleatoria cuatro grupos de 12 ovejas cada uno a los cuales se les asignaron los tratamientos. El estudio se inició, con una adaptación a las dietas experimentales en el momento que las ovejas se encontraban en la semana 13 de gestación. Las ovejas se identificaron con collares de colores para los diferentes tratamientos experimentales y se alojaron en corrales con comederos y bebederos individuales. En la medida que iban pariendo se identificaron las crías y durante 24 horas (madres y crías) eran ubicadas en el corral de maternidad y las ovejas se incorporaba al pastoreo con el grupo. Se mantuvieron en pastoreo rotación durante seis horas al día, para ello se formaron cinco potreros compuestos por la mezcla de *Dichantium annulatum*

y *Megathyrus maximus*. Después del pastoreo, las ovejas se encerraban y se distribuían en diferentes corrales de acuerdo con el tratamiento para recibir las dietas, momento en el que se adicionaba dieta con melaza para ajustar el nivel alto de energía en los tratamientos que lo requerían. Las ovejas permanecían durante la tarde y noche en cada corral asignado junto con sus crías y en el día pastoreaban.

### *Dietas y tratamientos*

Las dietas que se proporcionaron a las ovejas se elaboraron con caña de azúcar como ingrediente principal, con dos niveles de energía (alta y baja) y dos niveles de proteína (alta y baja), que representaron los tratamientos experimentales (Cuadro 1). La caña fue procesada mediante una fermentación en estado sólido (Elías, Lezcano, Lezcano, Cordero, & Quintana, 1990) para ello, la caña de azúcar se cosechó un día antes y se eliminaron las hojas para dejar únicamente los tallos. Éstos se molieron finamente en una picadora de forrajes (Picadora JF 30-P, Brasil). La caña molida se depositó en un área firme y plana bajo techo, luego se le agregaron los demás ingredientes que incluyeron: premezcla mineral, harina de maíz, pasta de soya, afrecho de trigo, urea disuelta en agua y sales minerales. Posteriormente se revolvieron todos los ingredientes y la mezcla se extendió en una capa de aproximadamente 10 cm de alto y se dejó fermentar de forma aeróbica por 24 h. Al término de este proceso, se ensiló en recipientes de 200 L para su conservación por 8 a 12 días.

Cuadro 1. Ingredientes de las dietas utilizadas en la alimentación de los animales experimentales.

| Ingredientes         | BEBP <sup>z</sup> | BEAP <sup>y</sup> | AEBP <sup>x</sup> | AEAP <sup>w</sup> |
|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Harina de Maíz (%)   | 3                 | 3                 | 26                | 20.5              |
| Soya (%)             | 5                 | 20                | 1.0               | 15.0              |
| Caña de azúcar (%)   | 83                | 65                | 67                | 60.0              |
| Mezcla mineral (%)   | 0.5               | 0.5               | 0.5               | 0.5               |
| Urea (%)             | 1.5               | 2                 | 1.5               | 2.0               |
| Melaza (%)           | 0                 | 0                 | 4.0               | 2.0               |
| Afrecho de trigo (%) | 7                 | 9.5               | 0                 | 0                 |
| Materia seca (%)     | 34.9              | 43.3              | 50.1              | 54.5              |
| Energía (Mcal/Kg)    | 2.32              | 2.3               | 2.65              | 2.65              |
| Proteína (%)         | 8.74              | 16.25             | 8.74              | 15.54             |

<sup>z</sup>BEBP=Baja energía baja proteína; <sup>y</sup>BEAP= Baja energía alta proteína; <sup>x</sup>AEBP= Alta energía baja proteína; <sup>w</sup>AEAP= Alta energía alta proteína.

### *Muestreos*

Las muestras de heces se colectaron semanalmente de manera directa del recto de los animales. El HPG para NGI se determinó con la técnica de McMaster (Thienpont, Rochette, & Vanparijs, 2003) con una sensibilidad mínima de 50 HPG.

Para obtener la muestra de sangre se usaron tubos al vacío con etilendiaminotetraacetato (EDTA), por medio de punción de la vena yugular y con la sangre completa se realizó la determinación del volumen celular aglomerado (VCA) mediante la técnica de microhematocrito y eosinófilos periféricos (EOS) con el uso de una cámara de Neubauer (Dawkins, Windon & Eagleson, 1989).

### *Análisis estadístico*

Se analizó el efecto del estado fisiológico por lo que las categorías de ovejas correspondieron a gestantes, las cuales después del parto se renombraron como lactantes y un grupo que se mantuvo durante todo el estudio de ovejas vacías. Para maximizar el número de repeticiones por tratamiento, se formuló un diseño de tratamientos factorial, donde los efectos principales fueron la energía con dos

niveles, alta energía (N= 24) y baja energía (N=24), y el otro efecto principal fue la proteína con los niveles alto (N=24) y bajo (N=24). Para eliminar la asimetría y aproximar el HPG a una distribución normal, los valores se transformaron a logaritmo (Log HPG+1). En el modelo se incluyeron los efectos fijos semana anidada en el estado reproductivo. Los datos se analizaron mediante el procedimiento Mixed del SAS (SAS, 2017), bajo el siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ijklmn} = \mu + \epsilon_i + 2(\epsilon)_{ij} + \omega_k + \rho_l + \gamma_m + \omega^* \rho_{kl} + \omega^* \epsilon_{ik} + \rho^* \epsilon_{il} + \omega^* \rho^* \epsilon_{ilk} + \omega^* 2(\epsilon)_{ijk} + \rho^* 2(\epsilon)_{ijl} + \epsilon_{ijklmn}$$

Donde:  $Y_{ijklm}$  = variable respuesta (HPG, VCA, EOS, etc.);  $\mu$  = media general;  $\epsilon_i$  = efecto del estado reproductivo (i = vacía, gestante, lactante);  $2(\epsilon)_{ij}$  = efecto fijo de la semana anidado en estado reproductivo (j=15, 16, 17...21 de gestación y 1, 2, 3..7 de lactancia);  $\omega_k$  = efecto del nivel de energía (k = alto y bajo),  $\rho_l$  = efecto del nivel de proteína (l = alto y bajo);  $\gamma_m$  = efecto aleatorio de la oveja;  $\omega^* \rho_{kl}$  = interacción entre la energía y la proteína;  $\omega^* \epsilon_{ik}$  = interacción de la energía con el estado reproductivo;  $\rho^* \epsilon_{il}$  = interacción de la proteína con el estado reproductivo;  $\omega^* \rho^* \epsilon_{ilk}$  = interacción triple de la energía con la proteína y el estado reproductivo;  $\omega^* 2(\epsilon)_{ijk}$  = interacción de la energía con la semana anidada en estado reproductivo;  $\rho^* 2(\epsilon)_{ijl}$  = interacción de la proteína con la semana anidada en estado reproductivo  $\epsilon_{ijklm}$  = es el error asociado con las medidas repetidas.

## Resultados

### *Efectos simples*

De los efectos simples estudiados, la energía y el estado reproductivo fueron los factores que afectaron los valores del HPG y VCA ( $p < 0.05$ ). Los animales que recibieron la dieta con un alto nivel de proteína, independiente de los niveles de energía, tuvieron menor CFH y mayor VCA. Por otra parte, las ovejas en lactancia mostraron los mayores CFH y el VCA, mientras que en las ovejas gestantes y

vacías ocurrió lo contrario. El nivel de energía no afectó los valores para las variables estudiadas (HPG, VCA y EOS).

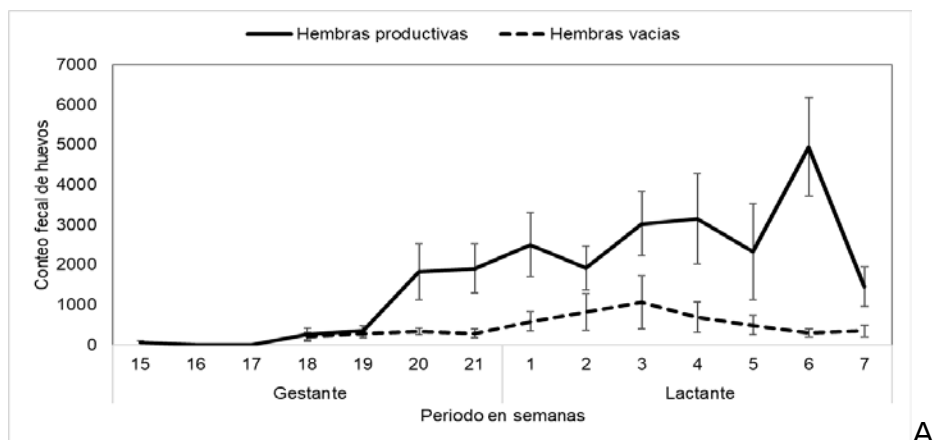
Cuadro 2. Efectos simples en las variables respuesta en ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales y alimentados con dos niveles de energía y proteína.

| Efectos                    | Conteo fecal de huevos |     | Volumen celular aglomerado (%) |      | Eosinófilos Células x $10^3\mu\text{L}$ |     |
|----------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|------|-----------------------------------------|-----|
|                            | Media                  | EE  | Media                          | EE   | Media                                   | EE  |
| <b>Nivel de Proteína</b>   | *                      |     |                                |      |                                         |     |
| Alta                       | 837 <sup>a</sup>       | 141 | 26.5 <sup>a</sup>              | 0.46 | 729                                     | 59  |
| Baja                       | 1680 <sup>b</sup>      | 248 | 24.6 <sup>b</sup>              | 0.59 | 767                                     | 74  |
| <b>Nivel de Energía</b>    | ns                     |     |                                |      |                                         |     |
| Alta                       | 1271                   | 205 | 25                             | 0.54 | 773                                     | 81  |
| Baja                       | 1263                   | 209 | 25.9                           | 0.55 | 725                                     | 50  |
| <b>Estado reproductivo</b> | **                     |     |                                |      |                                         |     |
| Gestante                   | 1085 <sup>b</sup>      | 264 | 26.7 <sup>a</sup>              | 0.73 | 713 <sup>ab</sup>                       | 148 |
| Lactante                   | 2709 <sup>c</sup>      | 359 | 21.9 <sup>b</sup>              | 0.69 | 595 <sup>b</sup>                        | 56  |
| Vacía                      | 427 <sup>a</sup>       | 96  | 27.7 <sup>a</sup>              | 0.4  | 903 <sup>a</sup>                        | 79  |

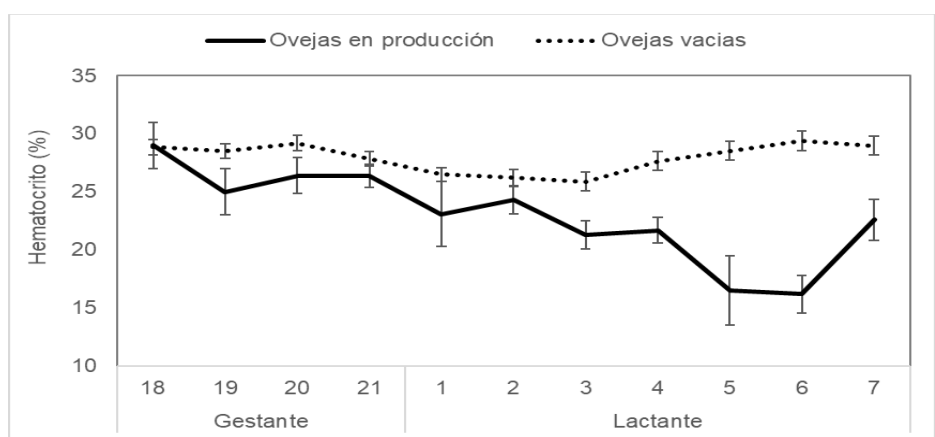
a,b,c Medias en cada columna y efecto, sin una letra en común son diferentes ( $p<0.05$ ).

#### *Efecto del tiempo con el estado reproductivo*

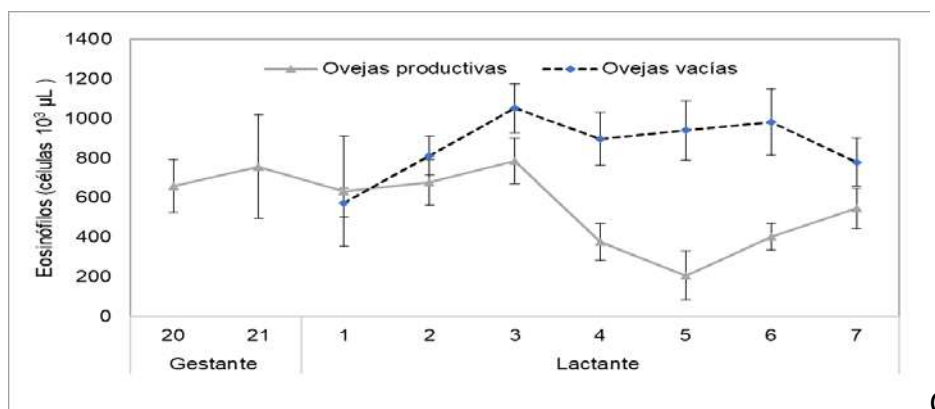
Tres semanas antes del parto el CFH se incrementó a valores superiores a los 1800 HPG, los cuales se mantuvieron durante las cinco semanas de lactancia y se observó un pico a las seis semanas de lactancia. Desde el inicio del alza periparto el CFH fue superior al de las ovejas vacías (Figura 1). El comportamiento del VCA fue al contrario del CFH, los mayores valores ocurrieron en las ovejas vacías, mientras que en las ovejas en producción el VCA se redujo a medida que se acercó al parto y durante las siguientes semanas de lactación el porcentaje del VCA disminuyó gradualmente, con una ligera tendencia a incrementar a partir de las semanas 6 y 7 de lactancia. Un comportamiento similar ocurrió para los EOS. Las ovejas vacías mantuvieron cierta resiliencia y resistencia ante los NGI en comparación con las ovejas en producción.



A



B

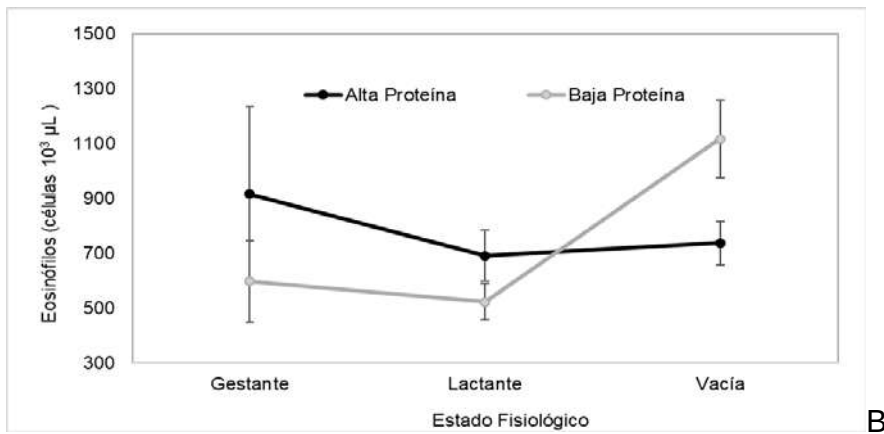
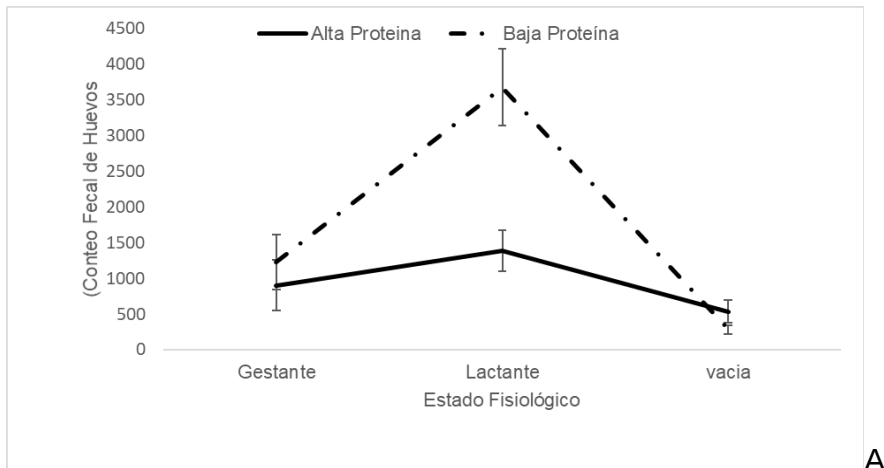


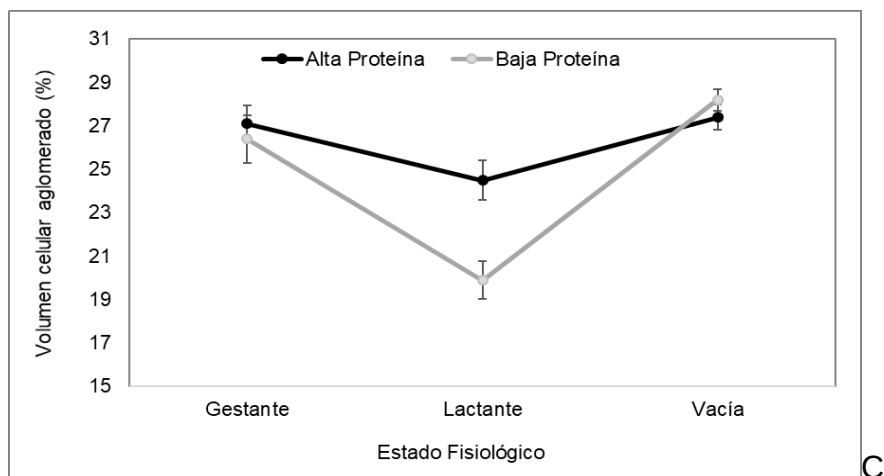
C

**Figura 1.** Evaluación del conteo fecal de huevos (A), volumen celular aglomerado (B) y eosinófilos periféricos (C) en ovejas Pelibuey en producción y vacías infectadas con nematodos gastrointestinales de manera natural en pastoreo.

*Efecto de la proteína con el estado reproductivo*

El efecto del contenido de proteína fue evidente en el CFH y el VCA (Figura 2) Así el alto nivel de proteína permitió que las ovejas lactantes tuvieran menor CFH y mayor VCA ( $p<0.01$ ). Mientras que las ovejas gestantes y lactantes no mostraron diferencias por efecto del nivel de proteína de la dieta en estas dos variables de respuesta. En el caso de los eosinófilos solamente las ovejas vacías mostraron diferente respuesta con el nivel de proteína.

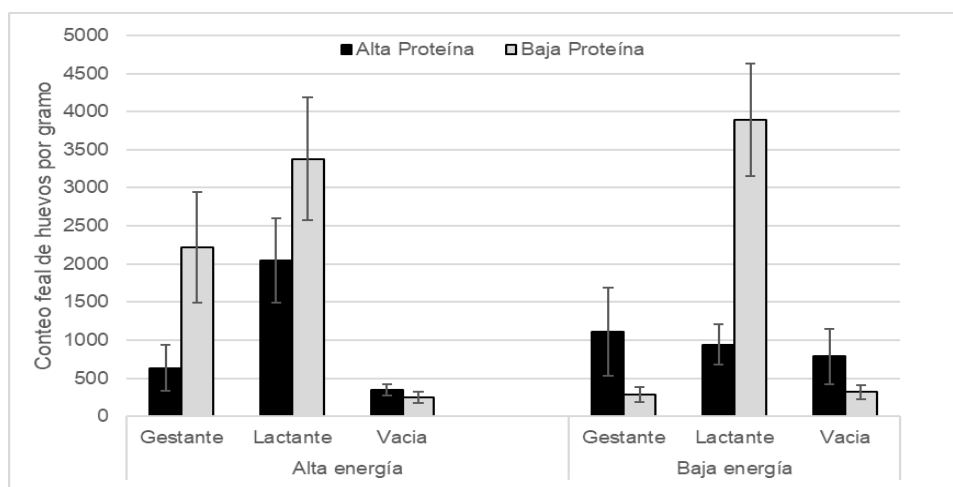




**Figura 2.** Interacción del nivel de proteínas de la dieta y el estado reproductivo sobre el conteo fecal de huevos (A), el volumen celular aglomerado (B) y los conteos de eosinófilos (C), en ovejas Pelibuey en condiciones de pastoreo.

#### *Interacción entre la energía y proteína con el estado reproductivo*

En el análisis de la interacción triple se observó que en las ovejas lactantes el alto nivel de proteína permite la reducción del CFH. En el caso de las hembras vacías no existieron diferencias atribuidas a la proteína de la dieta y en las ovejas gestantes los resultados no fueron consistentes (Figura 3).



**Figura 3.** Interacción del nivel de proteína y de energía de las dietas con el estado reproductivo sobre los conteos fecales de huevos en ovejas Pelibuey infectadas con nematodos gastrointestinales en condiciones de pastoreo.

## Discusión general

### *Conteo fecal de huevos*

El control de los NGI en el ganado ovino a través de la manipulación nutricional ha sido de interés en muchas investigaciones donde se consideran la suplementación con energía y proteínas (Cériac et al., 2019; Cériac et al., 2017; Coop & Holmes, 1996; Crawford et al., 2020; Torres-Acosta et al., 2012). El CFH observado durante los diferentes estados reproductivos de las ovejas con la suplementación de altos niveles de proteína demuestran el efecto de la suplementación con este nutriente sobre las cargas parasitarias, aunque algunos autores sugieren que la respuesta está regulada además de la cantidad, por la calidad de proteína suplementada (Crawford et al., 2020) aspecto que no fue posible estudiar. El efecto de la proteína dietética sobre el control de NGI se ha atribuido a un reemplazo de nutrientes que se desvían para desarrollar los elementos protectores de inmunidad (Hoste et al., 2016). Según Crawford et al. (2020) las pérdidas de proteína debidas al efecto de la infección con NGI se puede corregir con un aporte suficiente de proteína dietética, y en este sentido Knox, Torres-Acosta, & Aguilar-Caballero (2006) indican que puede ser que los requisitos de proteínas sean mucho más altos que los recomendados actualmente debido a los efectos de los NGI sobre el animal hospedador. Méndez-Ortiz et al. (2019) sugieren una relación importante entre el parasitismo y el consumo de energía y proteína de la dieta. Señalan que se requiere de un suministro adicional de energía, además de la proteína, para el desarrollo de los mecanismos inmunológicos. Sin embargo, en el presente estudio no se observó este efecto, tal vez porque los niveles de energía suplementados fueron suficientes para que las ovejas montaran una respuesta inmune adecuada y por ello que el nivel de energía no mostrará un efecto significativo en el CFH. Aunque bajo deficiencias de energía algunos estudios muestran que la energía de la dieta es indispensable en la activación de los mecanismos de defensa contra los NGI y con ello se reduce el efecto del parasitismo (Houdijk, 2012; Toscan et al. 2017);

al parecer, la suplementación con energía está sujeta a un proceso de reprogramación metabólica necesaria para el desarrollo y funcionamiento del sistema inmune (Mancebo, 2017). Este mecanismo puede generar un desvío de energía para la síntesis de metabolitos celulares necesarios en funciones efectoras y procesos de defensa (Colditz, 2008; Rhoads, Major, & Rathmell, 2017).

Los altos valores de HPG en ovejas en producción superaron ampliamente a los CFH de las ovejas vacías, podría ser una consecuencia del alza periparto y los mecanismos inmunológicos ampliamente estudiados (Abuargob & Stear, 2014; Hamer et al., 2019). La elevación en el CFH durante las últimas semanas de gestación y las primeras de lactancia, se produce por varios factores que actúan de manera simultánea, tales como, un balance energético negativo en la ovejas (Bell, 1995; Vasileiou et al., 2019), una reducción en la ingesta voluntaria de alimento, combinado con baja capacidad de absorción del intestino, lo que provoca mala utilización del alimento (Coop & Holmes, 1996), una consecuencia de la variación del estado reproductivo (Houdijk, 2008), y la depresión inmunológica (González-Garduño, López-Arellano, Mendoza-de Gives, Torres-Hernández, & Arece-García, 2018). La relajación periparto en el sistema inmune está ligada a las necesidades crecientes de energía y proteína para el crecimiento del feto (Mahieu & Aumont, 2007; Houdijk, 2008), incluyendo cambios hormonales (Gutiérrez-Amézquita, 2018; Cuenca-Verde, Buendía-Jiménez, & Alba-Hurtado, 2019). El hecho, que las ovejas lactantes fueran las más afectadas con altos HPG, también se pudiera explicar por el desarrollo masivo de larvas hipobióticas durante esta etapa reproductiva (Falzon et al., 2013). La hipobiosis, es la pausa del desarrollo larvario en la cual se detiene la maduración para evitar el periodo reproductivo y permanecer sexualmente inmaduro en el huésped (Taylor et al., 2007), por ello la inmunosupresión que se produce en esta etapa provee una oportunidad que favorece el desarrollo parasitario (Falzon et al., 2013).

### *Volumen celular aglomerado*

Los valores estimados para el VCA se vieron favorecidos por la suplementación con altos niveles de proteína y el estado reproductivo de las ovejas fue otro factor que afectó el nivel del VCA. El VCA además de indicar el estado de salud del animal y la presencia de nematodos hematófagos, se correlaciona con elementos que forman parte del sistema inmune, ya que se ha observado que existe un alto coeficiente de correlación positivo y alto ( $r = 0.7$ ,  $p < 0.05$ ) entre el valor VCA y los genes de las citocinas IL-4, IL-8 y TGF- $\beta$  (Maza-Lopez et al., 2020). Las inmunoglobulinas, mucoproteínas y productos de células inflamatorias, son de naturaleza proteica, por lo que se espera que los individuos hagan uso de las fuentes de proteínas, principalmente en momentos donde se necesita una mayor participación del sistema inmunitario (Goldberg et al., 2011). La suplementación proteica es una medida de control específicamente en las etapas críticas del último tercio de gestación y la lactancia, y junto con los suplementos energéticos pueden mejorar la respuesta inmune y la condición corporal de las ovejas en el parto (Houdijk, Jackson, Coop, & Kyriazakis, 2006), así como reducir los cambios pato-fisiológicos asociados con la anemia en los animales (Gutiérrez-Gil et al., 2010). Según Arece y López (2013) los daños patológicos ocurren con valores inferiores de 17 - 23 %. Kaplan et al. (2004) sugieren que, para ser considerado un daño patológico los valores, deben estar por debajo del 15 %. También Salazar y Rodríguez (2019) estimaron que ovejas de razas prolíficas y carniceras evidenciaron un descenso significativo en el VCA para ser catalogado como valor patológico en el periodo del parto y la lactancia. En otro trabajo, García-Baratute et al. (2009) encontraron que el hematocrito disminuyó progresivamente desde el inicio de la gestación, alcanzando los niveles más bajos en el segundo mes de lactancia, situación similar a la observada en el presente estudio. Sin embargo, las condiciones de manejo y alimentación pueden originar que el VCA no se reduzca tan drásticamente, tal como se ha observado en Cuba por Arece-García, López-Leyva, González-Garduño, y Torres-Hernández (2014) quienes indican que los valores promedio

de hematocrito se encuentra por encima de 25 % durante la gestación. Valores similares de VCA fueron publicados por Maza-Lopez et al. (2020) en ovejas Pelibuey antes del parto, y Cériac et al. (2017) al investigar el efecto de cuatro estados nutricionales que difieren en los niveles de proteína y energía. Como es conocido, el VCA es un parámetro importante en las parasitosis gastrointestinales, especialmente para *H. contortus* (Mederos et al., 2014). Es una variable que se afecta con las cargas altas de NGI (Dos Santos Oliveira, 2008), y es considerada como uno de los criterios de resiliencia y resistencia de los animales (Cériac et al., 2017; Davies, Stear, & Bishop, 2005), lo que pudiera ser de interés para establecer programas de selección.

### *Eosinófilos*

Los EOS son células de defensa y actúan junto con inmunoglobulinas (Moreau & Chauvin, 2010) en el control de NGI, sus valores están relacionados con el nivel de carga parasitaria, aunque sus conteos son muy variables dependiendo de muchos factores (Mishra, 2013). En algunos estudios como el de Buddle, Jowett, Green, Douch, y Risdon (1992), los EOS contados de manera individual en corderos infectados artificialmente con *T. colubriformis*, no proporcionan valores correlacionados con la infección ya que los promedios reportados se encuentran entre los valores considerados normales y en el caso de ovinos, el umbral es muy amplio de 0 a 1000/ $\mu$ l, (Aceña et al., 2008; Couto, 2010). Sin embargo, el estado reproductivo fue el factor que más afectó los valores de EOS, por lo que se pudiera considerar que los animales requieren incrementar el número de EOS como células efectivas antes las infecciones parasitarias, pero puede haber variaciones con base en el manejo sanitario de los animales (Balic, Cunningham, & Meeusen, 2006). En el periparto, se produce una elevada carga parasitaria en las ovejas, esta situación puede desencadenar eosinofilia como un mecanismo de defensa del hospedador (Castillo et al., 2011; Terefe et al., 2009). La eosinofilia se ha correlacionado negativamente con el CFH, lo cual se refleja en una menor carga parasitaria (Buendía-Jiménez et al., 2015), situación que se

observó en las ovejas vacías de este estudio, con menores CFH y mayores EOS, en relación con ovejas en producción o en ovejas gestantes y lactantes con dos niveles de proteína en la dieta. El aumento del nivel de acumulación de eosinófilos en los tejidos o en la sangre, con una marcada degranulación se puede observar en las infecciones parasitarias (Mishra, 2013). Las larvas y los estadios en desarrollo de NGI, muchas veces se incrustan en la mucosa intestinal, provocando un estímulo que genera una respuesta del huésped, caracterizada por un aumento de la eosinofilia (Jawairia, Shahzad, & Mustacchia, 2012). Según Balic et al. (2006), los eosinófilos pudieran dañar y matar larvas de NGI *in vivo* y su función puede depender de otros factores celulares e inmunológicos, como los mastocitos y las citocinas IL-4. En estudios desarrollados por González-Garduño et al. (2018) encontraron un desarrollo de la respuesta inmune adquirida por aumentando los niveles de IgA y eosinófilos en infecciones continuas principalmente en los corderos preinfectados con la mezcla de *H. contortus* y *T. colubriformis*.

### *Conclusiones*

La suplementación con un alto nivel de proteína en la dieta, pueden mejorar la resistencia de las ovejas y reducir los conteos fecales de huevos de nematodos y un mayor volumen celular aglomerado durante la lactancia en condiciones de pastoreo. El estado reproductivo es el factor que más afecta la respuesta parasitológica y hematológica de ovejas Pelibuey. Las ovejas vacías mantuvieron cierta resiliencia y resistencia ante los parásitos gastrointestinales, en comparación con las ovejas en producción, y las semanas más críticas son las correspondientes con el último tercio de gestación y las primeras semanas de la lactancia.

### *Agradecimientos*

Los autores agradecen a CONACYT por el apoyo financiero del primer autor durante sus estudios de doctorado.

### Conflicto de intereses

El autor declara que no hay ningún conflicto.

### Literatura citada

- Abuargob, O., & Stear, M. J. (2014). Differences between female and castrated male lambs in susceptibility to natural, predominantly *Teladorsagia circumcincta* infection. *Veterinary Parasitology*, 205, (3–4), 588-594, [doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.024](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.024).
- Aceña, C., Fernández, A., Ferrer, L. M., Gascón, M., Gómez, P., Loste, A., &... Verde, M. (2008). Manual de prácticas de Patología General. Zaragoza: Prensas Universitarias de Zaragoza. 121.
- Arece, J., & López, Y. (2013). Validación del método FAMACHA® en la detección de anemia en ovejas Pelibuey en Cuba. *Pastos y Forrajes*, 36, 479-484.
- Arece-García, J., López-Leyva, Y., González-Garduño, R., & Torres-Hernández, G. (2014). Evaluation of strategic and selective anthelmintic treatments on Pelibuey ewes in Cuba. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 27, 273-281.
- Balic, A., Cunningham, C. P., & Meeusen, E. N. T. 2006. Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. *Parasite Immunology*, 28, 107–115.
- Beasley, A. M., Kahn, L. P., & Windon, R. G. (2010). The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Parasitological and Immunological Responses. *Veterinary Parasitology*, 168, 60-70.
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal Animal Science*, 73, 2804-2819.
- Buddle, B. M., Jowett, G., Green, R. S., Douch, P. G. C., & Risdon, P. L. (1992). Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *International Journal for Parasitology*, 22, 955-960.
- 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. *Veterinary Parasitology*, 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*. *Veterinary Parasitology*, 177, 339-344.
- Castillos, C., & Hernández, J. (2016). Afecciones metabólicas peripartales en ovino y caprino de producción lechera. <https://www.researchgate.net/publication/322888248>. Consultada en marzo, 2020.
- Cériac, S., Archimède, H., Feuillet, D., Félicité, Y., Giorgi, M., & Bambou, C. J. (2019). Supplementation with rumen-protected proteins induces resistance to *Haemonchus contortus* in goats. *Scientific Reports*, 9, 1237. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-37800-3>.
- Cériac, S., Jayles, C., Arquet, R., Feuillet, D., Félicité, Y., & Archimède, H. (2017). The nutritional status affects the complete blood count of goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *BMC Veterinary Research*, 13, 326.
- Colditz, I. G. (2008). Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunology*, 30, 63–70, [doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00964.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00964.x).
- Coop, R. L., & Holmes, P. H. (1996). Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*, 26, 951–962.
- Couto, H. A. K. (2010). *Caracterización genética y perfil hematológico y bioquímico en ovinos de raza “Criolla Lanada Serrana” del planalto serrano catarinense – Santa Catarina, Brasil*. (Tesis Doctoral, Universidad de León, España). Consultada en <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/827/2009COUTO%20HACK,%20KARINA.pdf?sequence=1>.
- Crawford, C. D., Mata-Padrino, D. J., Belesky, D. P., & Bowdridge, S. A. (2020). Effects of supplementation containing rumen by-pass protein on parasitism in grazing lambs. *Small Ruminant Research*, 190, 106161.
- Davies, G., Stear, M. J., & Bishop, S.C. (2005). Genetic relationships between indicator traits and nematode parasite infection levels in 6-month-old lambs. *Animal Science*, 80, 143-150, [doi.org/10.1079/ASC41290143](https://doi.org/10.1079/ASC41290143).
- Dawkins, H. J. S., Windon, R. G., & Eagleson, G. K. (1989). Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *International Journal Parasitology*, 19, 199-205.
- Dos Santos Oliveira, L. L. (2008). Estudo da infecção por nematóides no período periparto de ovelhas Santa Inês. (Tese de Mestre, Universidade Estadual

- do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia). Consultada en <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp084375.pdf>.
- Elías, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J., & Quintana, L. (1990). Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido (saccharina). *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 24, 1–12.
- Falzon, L. C., Menzies, P. I., Shakya, K. P., Jones-Bitton, A., Vanleeuwen, J., Avula, J., & Peregrine, A. S. (2013). A longitudinal study on the effect of lambing season on the periparturient egg rise in Ontario sheep flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 110(3-4), 467-480, doi: 10.1016/j.prevetmed.2012.12.007.
- Goldberg, V., Ciappesoni, G., DeBarbieri, I., Rodríguez, A., & Montossi, F. (2011). Factores no genéticos que afectan la resistencia a parásitos gastrointestinales en Merino uruguayo. *Producción Ovina*, 21, 1–11.
- González-Garduño, R., López-Arellano, María E., Mendoza-de Gives, P., Torres-Hernández, G., & Arece-García, J. (2018). Immune response in Blackbelly lambs to *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* mixed infection in a hot and humid climate. *Tropical Biomedicine*, 35, 696-708.
- Gutiérrez- Gil, B., Pérez, J., De la Fuente, L. F., Meana, A., Martínez- Valladares, M., San Primitivo, F., & ... Arranz, J. J. (2010). Genetic parameters for resistance to trichostrongylid infection in dairy Sheep. *Animal*, 4, 505-512.
- 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). Consultada en <http://132.248.9.195/ptd2018/enero/0769471/Index.html>.
- Hamer, K., McIntyre, J., Morrison, A. A., Jennings, A., Robert, F., Leesone, S., ... & Sargisona, N. (2019). The dynamics of ovine gastrointestinal nematode infections within ewe and lamb cohorts on three Scottish sheep farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 171, 104752.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J. F. J., Quijada, J., Chan-Pérez, I., Dakheel, M. M., & Kommuru, D. S. (2016). Interactions between nutrition and infections with *Haemonchus contortus* and related gastrointestinal nematodes in small ruminants. *Advances in Parasitology*, 93, 239- 351.
- Houdijk, J. G. M. (2008). Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. *Parasite Immunology*, 30, 113-121.
- Houdijk, J. G. M. (2012). Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*, 103, 41-49.
- Houdijk, J. G. M., Jackson, F., Coop, R.L., & Kyriazakis, I. (2006). Rapid improvement of immunity to *Teladorsagia circumcincta* is achieved through

- a reduction in the demand for protein in lactating ewes. *International Journal for Parasitology*, 36, 219–227, doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.09.014.
- Jawairia, M., Shahzad, G., & Mustacchia, P. (2012). Eosinophilic gastrointestinal diseases: Review and Update. International Scholarly Research Network. *ISRN Gastroenterology*, 2012, 8, doi:10.5402/2012/463689
- Kaplan, R. M., Burke, J. M., Terrill, T. H., Miller, J. E., Getz, W. R., Mobini, S., &... Vatta, A. F. 2004. Validation of the FAMACHA® eye color chart for detecting clinical anemia on sheep and goat farms in the southern United States. *Veterinary Parasitology*, 123, 105–120, doi:10.1016/j.vetpar.2004.06.005.
- Mahieu, M., & Aumont, G. (2007). Periparturient rise in Martinik hair sheep and perspectives for gastrointestinal nematode control. *Tropical Animal Health Production*, 39, 387-390.
- Mancebo, T. C. (2017). *Reprogramación metabólica y transcripcional en células del sistema inmune*. (Tesis presentada en opción al grado científico de Master en Investigación Biomedica. Instituto de Biología y Genética Molecular. Universidad de Valladolid, España). Consultada en <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/26335>.
- 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.
- Maza-Lopez, J., Pacheco-Armenta, M. J., Reyes-Guerrero, D. E., Olmedo-Juárez, A., González-Garduño, R., Olazarán-Jenkins, S., & López-Arellano, M. E. (2020). Immune response related to Pelibuey sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes in a tropical región of Mexico. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 21, 100422.
- Mederos, A., Kelton, D., Peregrine, A. S., VanLeeuwen, J., Fernandez, S., LeBoeuf, A., & Martin, R. (2014). Evaluation of the utility of subjective clinical parameters for estimating fecal egg counts and packed cell volume in Canadian sheep flocks. *Veterinary Parasitology*, 205(3-4), 568-574. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.08.030.
- Méndez-Ortiz, F. A., Sandoval-Castro, C. A., Vargas-Magaña, J. J., Sarmiento-Franco, L., Torres-Acosta, J. F. J., & Ventura-Cordero, J. (2019). Impact of gastrointestinal parasitism on dry matter intake and live weight gain of lambs: a meta-analysis to estimate the metabolic cost of gastrointestinal nematodes, *Veterinary Parasitology*, 265, 1-6. [doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.11.008](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.11.008).

- Mishra, A. (2013). Significance of mouse models in dissecting the mechanism of human eosinophilic gastrointestinal diseases (EGID). *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research* 2: 845-853.
- Moreau, E., & Chauvin, A. (2010). Immunity against helminths: Interactions with the host and the intercurrent infections. Review Article. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 1-9.
- Muñoz-Guzmán, M. A., Cuenca-Verde, C., Buendía-Jiménez, J. A., & Alba-Hurtado, F. (2019, 28-30 de agosto). Citocinas y hormonas involucradas en la respuesta del hospedador a la hemoncosis ovina. XI Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria, Monterrey, Nuevo León. México.
- Notter, D. R., Burke, J. M., Miller, J. E., & Morgan, J. L. M. (2017). Factors affecting fecal egg counts in periparturient Katahdin ewes and their lambs. *Journal of Animal Science*, 95, 103–112. doi:10.2527/jas2016.095.
- O'Neill, L. A., Kishton, R. J., & Rathmell, J. (2016). A guide to immunometabolism for immunologists. *Nature Reviews Immunology*, 16, 553-565. DOI: 10.1038/nri.2016.70.
- Romero, E. E. (2014). Factores que influyen en la susceptibilidad de ovejas criollas y sulffolk a nematodos gastrointestinales en el período periparto. (Tesis de Grado. Colegio de Posgraduado, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, México). Consultada en <https://1library.co/document/7q06ddqg-factores-influyen-susceptibilidad-criollas-nematodos-gastrointestinales-periodo-periparto.html>.
- Rhoads, P. J., Major, S. A., & Rathmell, C. J. (2017). Fine tuning of immunometabolism for the treatment of rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 13, 313-320.
- Salazar, D. E., & Rodríguez, A. L. (2019). *Diferencias entre razas prolíficas y carniceras frente a la intensidad parasitaria y parámetros productivos en el período de periparto y lactancia en Uruguay*. (Tesis de Grado. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá). Consultada en <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1898/1/Tesis%20final%20PDF.pdf>.
- SAS, 2017. SAS/STAT User's Guide, Release 6. ed. Cary, NC, USA.
- Taylor, M., Coop, R., & Wall, R. (2007). Parasites of sheep and goats. Endoparasites *Veterinary Parasitology*. (3rd ed.) Oxford, Ames, Iowa: Blackwell Pub.
- Terefe, G., Lacroux, C., Prévot, F., Grisez, C., Bergeaud, J. P., Bleuart, C., & Jacquiet, P. (2009). Eosinophils in *Haemonchus contortus*-infected resistant and susceptible breeds of sheep: Abomasal tissue recruitment and in vitro functional state. *Veterinary Parasitology*, 165, 161-164.

- Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs, O.F.J. (2003). Diagnosing helminthiasis by coprological examination. In Janssen Animal Health 2003. (Third. ed.). *Janssen Research Foundation*. Beerse: Belgium.
- Torres-Acosta, J. T., Hoste, H., Sandoval-Castro, C. A., Torres-Fajardo, R. A., Ventura-Cordero, J., González-Pech, P. G., ... & Martínez-Ortíz-de-Montellano, C. (2019). The art of war against gastrointestinal nematodes in sheep and goats in the tropics. *Revista Académica Ciencia Animal*, 17, 39- 46.
- 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 conditions. *Small Ruminant Research*, 103, 28- 40.
- Toscan, G., Cadore, C. G., Limana, T. F. J., Weber, A., Palma, H. H., Duarte, F. M. M., Sangioni, L. A., & Vogel, F.S. F. (2017). Immune response of sheep naturally infected with *Haemonchus* spp. on pastures with two different nutritional conditions. *Semina: Ciências Agrárias* (Londrina), 38, 809-820, doi:10.5433/1679-0359.2017v38n2p809.
- Vasileiou, N. G. C., Arsenopoulos, K., Katsafadou, A. I., Angelou, A., Mavrogianni, V. S., Fthenakisa, G. C., & Papadopoulos, E. (2019). Interactions between parasitism and milk production - mastitis in sheep. *Small Ruminant Research*, 180, 70–73.
- Werne, S., Peter, E., Maurer, V., Probst, J. K., Hoste, H., Drewek. A., & Heckendorn. F. (2013). Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and faba vean (*Vicia faba*) on the periparturient rise in ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Small Ruminant Research*, 113, 454- 460.

## CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de los estudios realizados con corderos y ovejas en la lactancia mostraron los efectos que ocasionan las infecciones de nematodos gastrointestinales (NGI), especialmente el efecto de *H. contortus* sobre el estado de salud de los animales. Siendo una de las principales limitantes para el éxito de la ganadería a nivel mundial (Rodríguez-Diego, Olivares-Orozco, Sánchez-Castillejas, & Arece-García 2018) y sus alteraciones sobre los animales hospedadores son denominados el síndrome de gastroenteritis parasitaria (Hernández, 2011). El parasitismo gastrointestinal tiene un alto impacto en el desempeño productivo, provoca anemia severa, anorexia y pérdida de peso, además de altos costos por los tratamientos y la alta tasa de morbilidad y mortalidad (Burgunder et al., 2018; Mavrot et al., 2015). En la actualidad, el problema se acentúa por la resistencia a la mayoría de los fármacos, y esto provoca que la desparasitación no sea eficaz (Reyes-Guerrero et al., 2020; Torres- Acosta et al., 2019;) lo que ocasiona que las pérdidas económicas en el sector se incrementen. En el estudio presentado se pudo constatar que la energía es muy importante para el desarrollo inmunológico en los corderos en crecimiento, mientras que la proteína fue de mayor importancia en las ovejas en producción, ambas categorías son consideradas por muchos, como las más susceptibles a los NGI (Arece, 2007; Campbell et al., 2017; Whitley et al., 2014), por lo que es importante determinar el impacto de la alimentación en el desarrollo del control integral en NGI.

Los corderos confinados e infectados con larvas en tercer estadio de *H. contortus* mostraron el bajo nivel inmunológico a la primera infección y con ello la alta tasa de implantación de este parásito, lo que generó una respuesta inmune caracterizada por mediadores celulares como los eosinófilos y humorales como las inmunoglobulinas, los cuales estuvieron dependiendo del nivel nutricional. El incremento en los niveles de energía de la dieta condujo a que los corderos desarrollarán una respuesta inmunitaria tras el desafío con las larvas de *H.*

*contortus*. Son varios los autores que confirman los efectos de una buena alimentación en el desarrollo inmune del huésped y con ello evitar los efectos de los NGI (Cériac et al., 2019; Colditz & Hine, 2016). Los animales e incluso el hombre son capaces de montar una respuesta inmune ante la presentación de antígenos específicos. Los NGI y principalmente *H. contortus*, presentan una marcada variación antigénica (Hussain et al., 2014) es decir, logran desencadenar mecanismos inmunológicos de defensa en el animal, lo que permite la eliminación de larvas infectantes y parásitos adultos (Lacroux et al., 2006). La respuesta de los animales en el presente trabajo coincide con la descrita por Vlassoff et al. (2001) quienes observaron que a partir de los 10-12 meses de edad, los corderos desarrollaron una respuesta inmunitaria cuando fueron desafiados con larvas de manera natural durante el pastoreo y en caso de enfermedad, estrés o malnutrición pueden perder la capacidad de generar una respuesta adecuada. Se pudo observar en los corderos, la importancia de la suplementación con niveles altos de energía en la dieta, como un mecanismo para fortalecer el sistema inmune y de esta manera regular las cargas parasitarias de adultos, medidas de manera indirecta a través del conteo fecal de huevos (CFH) y a pesar de que no se afectaron los valores de las inmunoglobulinas entre los tratamientos, sí se observó un incremento de estos anticuerpos, como respuesta a infección semanal con larvas de *H. contortus*.

Por otra parte, como es ampliamente conocido, las diferencias de género sobre la resistencia se pudieron apreciar al encontrar que los machos fueron los más susceptibles a la parasitosis en comparación con las hembras y por ello el modelo estadístico utilizado considero el efecto del género del animal. Se obtuvieron niveles más altos de inmunoglobulinas en las hembras en relación con los machos. Esto coincide con lo indicado por Barger (1993), Hernández (2011) y Mandonnet et al. (2003), quienes han considerado que en general, las hembras responden de forma más adecuada (adecuada para ellas o para nosotros) a las infecciones por NGI. También Gauly et al. (2006), encontraron una mayor susceptibilidad a los NGI en los machos y de manera general en los rumiantes

se ha observado este efecto, al encontrar mayores CFH, tasas de establecimiento larvario y cargas parasitarias. En muchas razas se ha observado la alta resistencia de las hembras, lo cual se ha indicado desde hace muchos años (Adams, 1989) en ovinos merinos. Igual en animales merino en pastoreo Luffau et al. (1981) observaron bajos CFH y una mayor proporción en las reacciones de autocuración en las hembras.

Las ovejas en la etapa del parto y lactancia son consideradas las más afectadas por los NGI (Goldberg, 2011). Este periodo se caracteriza por una reducción en la inmunidad de las ovejas lo cual ocasiona una alta fecundidad de las hembras de NGI, trayendo como consecuencia elevada cantidad de huevos eliminados en heces e incrementando la susceptibilidad a otras infecciones (Abuargoba & Stear, 2014; Hamer et al., 2019). A este fenómeno se le denomina, elevación periparto o alza de primavera. Consiste en un aumento transitorio en conteo fecal de huevos de parásitos en heces de la oveja durante el último tercio de gestación y las primeras semanas de lactancia (Goldberg et al., 2012). El alza periparto pueden estar modulada por varios factores que actúan de manera simultánea, tales como, un balance energético negativo en la ovejas (Vasileiou et al., 2019), una reducción en la ingesta voluntaria de alimento, combinado con baja capacidad de absorción del intestino que provoca mala utilización del alimento (Coop & Holmes, 1996), una consecuencia de la variación del estado reproductivo (Houdijk, 2008), y la depresión inmunológica (González-Garduño, López-Arellano, Mendoza-de Gives, Torres-Hernández, & Arece-García, 2018). En el presente estudio las ovejas lactantes mostraron los efectos de los parásitos al observarse altos CFH en comparación con las ovejas vacías. También se pudo apreciar el cambio que ocurre en los CFH al pasar de una etapa reproductiva (gestación) a otra (lactancia) y en comparación con las ovejas vacías, se pudo notar el efecto de la proteína en el estado de salud de los animales. Se ha mencionado (Mahieu & Aumont, 2007) que la relajación periparto en la inmunidad está ligada a las necesidades crecientes de energía y proteína para el crecimiento del feto, así como a cambios hormonales (Muñoz-Guzmán et al., 2019). La

respuesta de las ovejas en el control de los NGI, se vieron beneficiados por el aporte de proteína en la dieta, algo diferente a lo que resultó para el caso de los corderos confinados, por lo que se puede mencionar que el control de los NGI depende de muchos factores y la respuesta de los animales es muy variable. En este sentido, Houdijk et al. (2006) encontraron que la suplementación proteica es una medida de control específicamente en las etapas críticas del último tercio de gestación y lactancia y junto con los suplementos energéticos pueden mejorar la respuesta inmune, la condición corporal de las ovejas en el período periparto. Gutiérrez-Gil et al. (2010) y Goldger et al. (2011) coinciden al plantear que el principal efecto de la suplementación proteica consiste en el aumento de la capacidad inmune y aumento de la resistencia a la reinfección, fundamentada en una mayor respuesta inmune celular en la mucosa gastrointestinal. El estado reproductivo también es un factor que considerar a la hora de establecer cualquier estrategia de control de NGI.

Se concluye que existe la necesidad del desarrollo de estrategias de control contra nematodos gastrointestinales, considerando a la suplementación de energía y proteína como parte de la manipulación nutricional. Se requiere del aporte suficiente de energía en la etapa de finalización de los coderos en confinamiento y de la suplementación de proteína en ovejas en periparto, para reducir los efectos de los NGI y para mejorar la respuesta inmunológica y mantener los índices de salud en los animales medido a través de los índices hematológicos.

#### *Literatura citada*

- Abuargob, O., Stear, M. J. (2014). Differences between female and castrated male lambs in susceptibility to natural, predominantly *Teladorsagia circumcincta* infection. *Veterinary Parasitology*, 205, 588-594, doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.024.
- Adama, D. B. (1989). A preliminary evaluation of factors affecting an experimental system for vaccination-and-challenge with *Haemonchus contortus* in sheep. *International Journal for Parasitology*, 19, 169-175.

- Arece, G. J. (2007). La epizootiología como herramienta para el control parasitario en ovinos. *Pastos y Forrajes*, 30, 35-43.
- Barger, I. A. (1993). Influence of sex and reproductive status on susceptibility of ruminants to nematode parasitism. *International Journal for Parasitology*, 23, 463-469.
- Burgunder, J., Petrželková, K. J., Modrýa, D., Kato, A., & MacIntosh, A. J. J. (2018). Fractal measures in activity patterns: ¿Do gastrointestinal parasites affect the complexity of sheep behaviour? *Applied Animal Behaviour Science*, 205, 44–53, doi.org/10.1016/j.applanim.2018.05.014.
- Campbell, B. J., Pullin, A. N., Pairis-Garcia, M. D., McCutcheon, J. S., Lowe, G. D., Campler, M. R., & Fluharty, F. L. (2017). The effects of alternative weaning strategies on lamb health and performance. *Small Ruminant Research*, 156, 57-65, doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.09.006.
- Cériac, S., Archimède, H., Feuillet, D., Félicité, Y., Giorgi, M., & Bambou, C. J. (2019). Supplementation with rumen-protected proteins induces resistance to *Haemonchus contortus* in goats. *Scientific Reports*, 9, 1237. <https://www.nature.com/articles/s41598-018-37800-3>.
- Colditz, G. I. & Hine, B. C. A. (2016). Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare. *Animal Production Science*, 56, 1961-1983.
- Coop, R. L., & Holmes, P. H. (1996). Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*, 26, 951–962.
- Gauly, M., Schackert, M., Hoffmann, B., & Erhardt, G. (2006). Influence of sex on the resistance of sheep lambs to an experimental *Haemonchus contortus* infection. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 113, 178-8.
- Goldberg, V., Ciappesoni, G., & Aguilar, I. (2012). Genetic parameters for nematode resistance in periparturient ewes and post- weaning lambs in Uruguayan Merino Sheep. *Livestock Science*, 147, 181-187.
- Goldberg, V., Ciappesoni, G., DeBarbieri, I., Rodríguez, A., & Montossi, F. (2011). Factores no genéticos que afectan la resistencia a parásitos gastrointestinales en Merino Uruguayo. *Producción Ovina*, 21, 1–11.
- González-Garduño, R., López-Arellano, María E., Mendoza-de Gives, P., Torres-Hernández, G., & Arece-García, J. (2018). Immune response in Blackbelly lambs to *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* mixed infection in a hot and humid climate. *Tropical Biomedicine*, 35, 696-708.
- Gutiérrez- Gil, B., Pérez, J., De la Fuente, L. F., Meana, A., Martínez- Valladares, M., San Primitivo, F., & ... Arranz, J. J. (2010). Genetic parameters for resistance to trichostrongylid infection in dairy sheep. *Animal*, 4, 505-512.
- Hamer, K., McIntyre, J., Morrison, A. A., Jennings, A., Robert, F., Leesone, S., ... & Sargisona, N. (2019). The dynamics of ovine gastrointestinal nematode

- infections within ewe and lamb cohorts on three Scottish sheep farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 171,104752.
- Hernández, B. A. (2011). Estudio de la respuesta inmune frente a *Haemonchus contortus* en dos razas ovinas canarias. (Tesis Doctoral. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Facultad de Veterinaria, Arucas). Consultada en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=101068>.
- Houdijk, J. G. M. (2008). Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. *Parasite Immunology*, 30, 113-121.
- Houdijk, J. G. M., Jackson, F., Coop, R.L., & Kyriazakis, I. (2006). Rapid improvement of immunity to *Teladorsagia circumcincta* is achieved through a reduction in the demand for protein in lactating ewes. *International Journal for Parasitology*, 36, 219–227, doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.09.014.
- Hussain, T., Periasamy, K., Asif, N., Masroor, E. B., Pichler, R., & Diallo, A. (2014). Sympatric species distribution, genetic diversity, and population structure of *Haemonchus* isolates from domestic ruminants in Pakistan. *Veterinary Parasitology*, 206, 188-199.
- Lacroux, C.; Nguyen, T. H. C., Andreoletti, O., Prevota, F., Griseza, C., Bergeaud J. P., ... & Philippe, J. (2006). *Haemonchus contortus* (Nematoda:Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*, 37, 607-622.
- Luffau, O., Péry, P., & Chariey, J. (1981). Réponsa immunitaire diez les ovina infestés expérimentalement par *Haemonchus contortus*: étude comparative chez le mâle et chez la femelle. *Annales de Rechercharie Vétérinaire*, 12, 173-1 81.
- Mahieu, M., & Aumont, G. (2007). Periparturient rise in Martinik hair sheep and perspectives for gastrointestinal nematode control. *Tropical Animal Health Production*, 39, 387-390.
- Mandonnet, N., Ducrocq, V., Arquet, R., & Aumont, G. (2003). Mortality of Creole kids during infection with gastrointestinal strongyles: a survival analysis. *Journal Animal Science*, 81, 2401-8.
- 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.
- Muñoz-Guzmán, M. A., Cuenca-Verde, C., Buendía-Jiménez, J. A., & Alba-Hurtado, F. (2019, 28-30 de agosto). Citocinas y hormonas involucradas en la respuesta del hospedador a la hemoncosis ovina. XI Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria, Monterrey, Nuevo León. México.
- Reyes-Guerrero, D. E., Cedillo-Borda, M., Alonso-Morales, R. A., Alonso-Díaz, M. A., Olmedo-Juárez, A., Mendoza-de-Give, P., & López-Arellano, M. E.

- (2020). Comparative study of transcription profiles of the P-glycoprotein transporters of two *Haemonchus contortus* isolates: Susceptible and resistant to ivermectin. *Molecular & Biochemical Parasitology*, 238, 111281, doi.org/10.1016/j.molbiopara.2020.111281.
- Rodríguez-Diego, J. G., Olivares-Orozco, J. L., Sánchez-Castillejas, Y., & Arece-García, J. (2018). Evolución de los Helmintos. *Revista de Salud Animal*, 40, e10.
- Torres-Acosta, J. T., Hoste, H., Sandoval-Castro, C. A., Torres-Fajardo, R. A., Ventura-Cordero, J., González-Pech, P. G., ... & Martínez-Ortíz-de-Montellano, C. (2019). The art of war against gastrointestinal nematodes in sheep and goats in the tropics. *Revista Académica Ciencia Animal*, 17, 39- 46.
- Vasileiou, N. G. C., Arsenopoulos, K., Katsafadou, A. I., Angelou, A., Mavrogianni, V. S., Fthenakisa, G. C., ... & Papadopoulos, E. (2019). Interactions between parasitism and milk production - Mastitis in sheep. *Small Ruminant Research*, 180, 70–73.
- Vlassoff, A., Leathwick, D. M., Heath, A. C. (2001). The epidemiology of nematode infections of sheep. *N Z Veterinary Journal*, 49, 213-21.
- Whitley, N. C., Oh, S.-H., Lee, S. J., Schoenian, S., Kaplan, R. M., Storey, B., ... & Perdue, M. A. (2014). Impact of integrated gastrointestinal nematode management training for U.S. goat and sheep producers. *Veterinary Parasitology*, 200, 271–275, doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.029.