



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA DIETA DE OVINOS PELIBUEY EN LA ZONA TROPICAL DE MÉXICO: RESPUESTA EN COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, INMUNE Y PARASITARIO

GERARDO JIMÉNEZ PENAGO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: **ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA DIETA DE OVINOS PELIBUEY EN LA ZONA TROPICAL DE MÉXICO: RESPUESTA EN COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, INMUNE Y PARASITARIO**, realizada por el alumno Gerardo Jiménez Penago, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GÉNICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



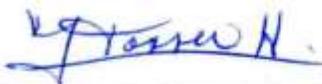
DR. OMAR HERNÁNDEZ MENDO

ASESOR



DR. ROBERTO GONZÁLEZ GARDUÑO

ASESOR



DR. GLAFIRO TORRES HERNÁNDEZ

ASESOR



DR. LORENZO DANILO GRANADOS RIVERA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Marzo 2020.

ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN LA DIETA DE OVINOS PELIBUEY EN LA ZONA TROPICAL DE MÉXICO: RESPUESTA EN COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, INMUNE Y PARASITARIO

Gerardo Jiménez Penago, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

Se evaluó el efecto del ácido linoleico conjugado (ALC) en la respuesta inmune y parasitaria de ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales (NGI). Se emplearon veinticuatro corderos Pelibuey, distribuidos homogéneamente en cuatro grupos de seis animales, en un diseño completamente al azar. Se evaluaron cuatro tratamientos: T1) Desparasitado sin ALC en la dieta base; T2) Parasitado sin ALC en la dieta base; T3) Parasitado + dieta base con 1% ALC; y T4) Parasitado + dieta base con 3% ALC. Los corderos fueron infectados experimentalmente con NGI. Se evaluó la respuesta inmune (serie blanca, roja y plaquetaria), parasitaria y productiva. Los resultados se analizaron con el Proc GLM y la comparación de medias con la prueba de Tukey. Adicionalmente se utilizaron contrastes ortogonales en las variables del comportamiento inmune. Los componentes celulares de la serie blanca fueron menores ($P \leq 0.05$) en corderos parasitados suplementados con 1% de ALC. De la serie roja, el hematocrito (HCT) y el recuento de glóbulos rojos (RBC) disminuyeron ($P \leq 0.05$), la hemoglobina corpuscular media (MCH) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) aumentaron, en corderos parasitados suplementados con ALC. El volumen corpuscular medio (MCV) aumentó respecto a corderos desparasitados sin suplementación con ALC. De la serie plaquetaria, únicamente el total de volumen plaquetario medio (MPV) y ancho de distribución plaquetaria (PDW), tuvieron valores mayores en corderos parasitados suplementados con ALC. El total de huevos de parásitos gastrointestinales por gramos de heces (HPG), la proteína plasmática (PP) y niveles de inmunoglobulinas (IgG) e (IgM) no se modificaron entre tratamientos ($P > 0.05$). En comportamiento productivo, únicamente el consumo de materia seca (CMS) varió entre tratamientos ($P \leq 0.05$), con mayor valor en corderos parasitados suplementados con 3% de ALC. Incluir ALC en la dieta para ovinos Pelibuey en un

estado de infección parasitaria, no ofreció beneficios en comportamiento inmunológico, parasitario, y productivo.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, parasitismo, respuesta inmune, borregos Pelibuey.

CONJUGATED LINOLEIC ACID IN THE DIET OF PELIBUEY SHEEP IN THE MEXICAN TROPICAL AREA: ANIMAL PERFORMANCE, IMMUNE AND PARASITIC RESPONSE

ABSTRACT

The effect of conjugated linoleic acid (CLA) on the immune and parasitic response of Pelibuey sheep infected with gastrointestinal nematodes (GIN) was evaluated. Twenty-four Pelibuey lambs, homogeneously distributed in four groups of six animals, were used in a completely randomized design. Four treatments were evaluated: T1) Disinfected + base diet without CLA; T2) Infected + base diet without CLA; T3) Infected + base diet with 1% CLA; and T4) Infected + base diet with 3% CLA. The lambs were experimentally infected with GIN. The immune response (white, red and platelet series), parasitic and productive were evaluated. The results were analyzed using the Proc GLM and the comparison of means using the Tukey test. Additionally, orthogonal contrasts were used in the variables of immune response. The cellular components of the white series were lower ($P \leq 0.05$) in parasitized lambs supplemented with 1% of CLA. From the red series, the hematocrit (HCT) and red blood cell count (RBC) decreased ($P \leq 0.05$), the mean corpuscular hemoglobin (MCH) and the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) increased, in parasitized lambs supplemented with CLA. The mean corpuscular volume (MCV) increased with respect to dewormed lambs without supplementation with CLA. From the platelet series, only the total of mean platelet volume (MPV) and the platelet distribution width (PDW), they had higher values in parasitized lambs supplemented with CLA. The total of gastrointestinal parasite egg count per grams of faeces (EPG), the plasma protein (PP) and immunoglobulins (IgG) and (IgM) levels were not modified between treatments ($P > 0.05$). Respect to animal performance, only dry matter intake (DMI) varied between treatments ($P \leq 0.05$), with greater value in parasitized lambs supplemented with 3% of CLA. Including CLA in the diet for Pelibuey sheep in a parasitic infection condition, did not offer benefits in immunological, parasitic, and productive response.

Key words: conjugated linoleic acid, parasitism, immune response, Pelibuey sheep.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría.

Al **Colegio de Postgraduados**, por la oportunidad brindada para realizar los estudios de Maestría en Ciencias.

Al **Dr. Omar Hernández Mendo**, por la oportunidad otorgada en la realización de esta investigación, así por el apoyo inagotable, dedicación y consejos durante mi formación académica. Además, por las constantes observaciones realizadas a la presente tesis. Sobre todo, por brindarme su amistad, confianza y apoyo incondicional.

Al **Dr. Roberto González Garduño**, por facilitar sus instalaciones, el apoyo constante en campo y laboratorio, así por la ayuda en los análisis estadísticos, y de las observaciones de la presente investigación, asimismo, por su amistad otorgada.

A los miembros del consejo particular, **Dr. Glafiro Torres Hernández**, **Dr. Lorenzo Danilo Granados Rivera**, por su colaboración en sugerencias para la realización de esta investigación.

A la **Dra. María Magdalena Crosby Galván** y personal del Laboratorio de Nutrición Animal, por el apoyo para realizar los análisis de laboratorio.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
LITERATURA CITADA.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Nematodos gastrointestinales.....	6
Ciclo biológico.....	8
Respuesta inmune a infección por nematodos gastrointestinales	9
Resistencia antihelmíntica	12
Mecanismos de control de la parasitosis	13
Nutrición y sistema inmune	14
Ácido linoleico conjugado (ALC)	16
Metabolismo del ALC.....	17
Propiedades fisiológicas	18
Mecanismos de acción de ALC	18
Efecto del ALC en el sistema inmune	20
LITERATURA CITADA.....	22
CAPÍTULO I. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ASOCIADO A LA RESPUESTA INMUNE Y PARASITARIA DE OVINOS PELIBUEY INFECTADOS CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES.....	31
RESUMEN	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUCCIÓN	34
MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
Localización.....	36
Corderos, diseño experimental y tratamientos.....	36

Alimentación experimental.....	36
Variables medidas	38
<i>Comportamiento inmune</i>	38
<i>Determinación de IgG e IgM</i>	39
<i>Comportamiento parasitario</i>	40
<i>Comportamiento productivo</i>	40
Análisis estadístico	41
RESULTADOS.....	42
Comportamiento inmune.....	42
Comportamiento parasitario.....	44
Comportamiento productivo	45
DISCUSIÓN	46
Comportamiento inmune.....	46
Comportamiento parasitario.....	50
Comportamiento productivo.....	52
CONCLUSIÓN	53
LITERATURA CITADA.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	63

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Principales nematodos gastrointestinales que afectan a los rumiantes.....	7
Cuadro 2. Nutrientes importantes en la función inmune.....	15

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.	37
Cuadro 2. Componentes celulares periféricos de la serie blanca en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.....	42
Cuadro 3. Componentes celulares periféricos de la serie roja en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.....	43
Cuadro 4. Componentes celulares periféricos de la serie plaquetaria en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.....	44
Cuadro 5. Carga parasitaria y niveles de inmunoglobulinas de ovinos Pelibuey suplementados con ácido linoleico conjugado en la dieta.....	45
Cuadro 6. Parámetros del comportamiento productivo en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Respuesta inmune frente al desafío de nematodos gastrointestinales.	9
Figura 2. Estructura química del ácido linoleico y de los isómeros <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 y <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 ALC.....	16
Figura 3. Vías de síntesis del ácido linoleico conjugado en rumen y tejido (glándula mamaria).....	17
Figura 4. Síntesis de eicosanoides por vía del ácido araquidónico y su inhibición por ALC.	19
Figura 5. Mecanismo de acción “Vía nuclear” del ALC en la modulación de afecciones sistémicas.	20

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los nematodos gastrointestinales son uno de los mayores problemas en los sistemas de producción animal, en particular, en pequeños rumiantes, debido al impacto económico asociado al control químico (Rahman *et al.*, 2017). Además, la parasitosis origina en los animales anemia, reducción del apetito y disminución del crecimiento, lo cual ocasiona pérdidas en la producción de carne, leche, lana, y en casos más severos, la muerte del animal (Charlier *et al.*, 2017). Esto se debe principalmente a que el huésped utiliza todos los nutrientes para desarrollar una respuesta inmune, utilizando los recursos disponibles que serían utilizados por el animal para su desarrollo y producción, generando en este un estado de inmunopatología por una activación inmune inapropiada o excesiva (Colditz, 2008). En la búsqueda para reducir estos efectos de la parasitosis, se ha hecho un intenso uso de los antihelmínticos, originando resistencia hacia diversos grupos de fármacos, y generando mutaciones en los nematodos gastrointestinales (NGI) (McIntyre *et al.*, 2018), lo cual dificulta su control a futuro. Recientemente se han explorado diversas estrategias alternativas de control de NGI, como el uso de animales genéticamente resistentes, manejo del pastoreo, desarrollo de vacunas, y mejora de la nutrición (Karrow *et al.*, 2013), siendo este último de particular importancia debido a modulación de la respuesta inmunológica, ya que todos los nutrientes, como la energía y aminoácidos, son fundamentales en la actividad anabólica de las células del sistema inmune (Paul y Dey, 2015). Un nutriente que puede ayudar para este fin, es el ácido linoleico conjugado (ALC), debido a que de forma potencial tiene propiedades inmunomoduladoras (Viladomiu *et al.*, 2016). Dicha propiedad puede ser explicada por dos mecanismos de acción, 1) que involucra cambios en los eicosanoides debido a que el ALC suprime la vía biosintética del ácido araquidónico, y 2) por una modulación de la activación de receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) a nivel nuclear (Yang *et al.*, 2015), incrementando la respuesta inmune, tanto celular como humoral. En modelos animales, se ha reportado que el ALC es capaz de reducir la carga parasitaria de *Giardia lamblia* por el aumento de células presentadoras de antígenos (APCs), como células dendríticas y macrófagos (Montalvo *et al.*, 2018), aspecto de interés, ya que la respuesta innata de los rumiantes ante infecciones parasitarias, es originada por las APCs, que involucran a

los neutrófilos, monocitos, macrófagos, células asesinas NK (Natural Killer) y células dendríticas (Hendawy, 2018), que posteriormente dan paso a la respuesta adaptativa, que involucra a su vez a las células linfocitarias T y B (respuesta inmune humoral). Con base en estos antecedentes, nuestra hipótesis fue que ovinos suplementados con ALC, podrían reducir la carga parasitaria, y consecuentemente mejorar la respuesta inmune. Sin embargo, hasta el momento, no hay estudios a este respecto, por lo menos no reportados, y menos en ovinos Pelibuey, a pesar de ser una raza ampliamente extendida en territorio mexicano, siendo un elemento base en la economía de pequeños ganaderos. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia del ácido linoleico conjugado en la respuesta inmune y parasitaria de ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales.

LITERATURA CITADA

- Charlier, J., Thamsborg, S.M., Bartley, D.J., Skuce, P.J., Kenyon, F., Geurden, T., Hoste, H., Willian, A.R., Sotiraki, S., Höglund, J., Chartier, C., Geldhof, P., van Dijk, J., Rinaldi, L., Morgan, E.R., von Samson-Himmelstjerna, G., Vercruysse, J., Claerebout, E. (2017). Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 217-234.
- Colditz, I.G. (2008). Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunology*, 30(2), 63-70.
- Hendawy, S.H.M. (2018). Immunity to gastrointestinal nematodes in ruminants: effector cell mechanisms and cytokines. *Journal of Parasitic Diseases*, 42(4), 471-482.
- Karrow, N.A., Goliboski, K., Stonos, N., Schenkel, F., Peregrine, A. (2013). Genetics of helminth resistance in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(1), 1-9.
- McIntyre, J., Hamer, K., Morrison, A.A., Bartley, D.J., Sargison, N., Devaney, E., Laing, R. (2018). Hidden in plain sight – Multiple resistant species within a strongyle community. *Veterinary Parasitology*, 258, 79-87.
- Montalvo, C.M., Puebla, C.L., López, R.G., Reyes, D.I., López, C.G., Moya, C.S.Y. (2018). El ácido linoleico conjugado aumenta la inmunidad innata de la mucosa intestinal contra el parásito *Giardia lamblia* en un modelo murino. *Nova Scientia*, 10(2), 228-246.
- Paul, S.S., Dey, A. (2015). Nutrition in health and immune function of ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*, 85(2), 103-112.
- Rahman, M.A., Labony, S.S., Dey, A.R., Alam, M.Z. (2017). An epidemiological investigation of gastrointestinal parasites of small ruminants in Tangail, Bangladesh. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 15(2), 255-259.
- Viladomiu, M., Hontecillas, R., Bassaganya-Riera, J. (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European Journal of Pharmacology*, 785, 87-95.

Yang, B., Chen, H., Stanton, C., Paul, R.R., Zhang, H., Chen, Y.Q., Chen, W. (2015).
Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal of
Functional Foods*, 15, 314-325.

REVISIÓN DE LITERATURA

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) representan una de las principales limitantes en la productividad de los rumiantes en todo el mundo, repercutiendo económicamente, por el uso constante de productos químicos y por la muerte de animales jóvenes (van der Voort *et al.*, 2013). Situación que se agrava en las zonas tropicales, debido que son las condiciones agroclimáticas propias para *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*, principales parásitos de importancia, debido a su alta capacidad de morbilidad y mortalidad de animales (Torres-Acosta y Hoste, 2008). Además, controlar la parasitosis se vuelve un reto para los ovinocultores, ya que ha crecido la resistencia antihelmíntica en muchos de los productos químicos usados convencionalmente (Mondragón-Ancelmo *et al.*, 2019). Por lo cual se ha intensificado la búsqueda de alternativas de control parasitaria, que no incluyan el uso de productos antihelmínticos comerciales, principalmente con un enfoque sostenible, que considere las condiciones climáticas, genéticas e inmunológicas de los animales (Papadopoulos *et al.*, 2012). Al respecto, la suplementación nutricional es una alternativa capaz de mejorar la resistencia y resiliencia ante las infecciones parasitarias (Gárate-Gallardo *et al.*, 2015), mejorando así la respuesta inmunológica de los rumiantes. Recientemente se ha demostrado la capacidad del ácido linoleico conjugado (ALC) como un potente inmunomodulador en diversos modelos animales (Yang *et al.*, 2015), confiriéndole la categoría de alimento nutracéutico. Incluso, se ha reportado que el ALC es capaz de restaurar la respuesta inmune de ratones infectados por *Plasmodium berghei* (Kumar *et al.*, 2011) y de reducir la carga parasitaria de *Giardia lamblia* (Montalvo *et al.*, 2018), aunque existen dudas de los mecanismos de acción del ALC en la contribución de la reducción parasitaria. En este contexto, la presente revisión tiene como objetivo describir el efecto del ALC en la respuesta inmunológica de los rumiantes infectados con nematodos gastrointestinales, como alternativa de control parasitaria.

Nematodos gastrointestinales

Los principales nematodos gastrointestinales (NGI) que infectan a los rumiantes pertenecen a la familia Trichostrongylidae (Cuadro 1), integrada por los géneros y especies como: *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Trichuris ovis*, *Capillaria bovis*, *Toxocara vitulorum*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum*, *Strongyloides papillosus*, *Bunostomum* y *Dictyocaulus* (Vignau *et al.*, 2005), los cuales en conjunto producen una infección multietiológica.

Por lo general, los pequeños rumiantes son los más afectados por infecciones de NGI, debido a una relación huésped-parásito, propiciada por el tipo de pastoreo, así como de las condiciones agroclimáticas, ya que nematodos de la especie *Ostertagia* y *Nematodirus* son más proliferativos en regiones templadas, mientras que *Haemonchus*, *Bunostomum*, *Cooperia* y *Trichostrongylus* se encuentra mayormente en regiones tropicales (Tariq, 2014). Aunque, *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis* son los de mayor prevalencia y patogenicidad en el mundo. Es, el primero el de mayor importancia, ya que al ser hematófago ocasiona problemas de anemia, anorexia y muerte de animales con alta susceptibilidad (Ortolani *et al.*, 2013).

Los NGI afectan la productividad animal por disminución del consumo, baja digestibilidad de la dieta e ineficiente absorción de los nutrientes metabolizados, además de una significativa pérdida de proteína endógena en el tracto digestivo (Houdijk, 2012). Debido a que las larvas dañan las células parietales de la mucosa intestinal, interrumpen la producción de ácido clorhídrico (HCL) y por ende un aumento del pH abomasal, limitando la conversión de pepsinógeno a pepsina (Miller y Horohov, 2006), de tal manera, que aumenta la concentración de pepsinógeno circulante y con ello, se limita la digestión de proteínas y se interrumpe el sistema de defensa de la mucosa intestinal (Simpson, 2000). Además, la proteína circulante (albúmina) y el sodio se mueven de la sangre a la luz del abomaso, ocasionando la eliminación de líquidos y diarrea (Miller y Horohov, 2006), siendo está última una característica de altas cargas parasitarias.

Cuadro 1. Principales nematodos gastrointestinales que afectan a los rumiantes.

Género	Hábitat	Enfermedad	Distribución
<i>Strongyloides papillosus.</i>	Intestino delgado	Estrongiloidiasis	Todo el mundo (Trópico Húmedo)
<i>Oesophagostomum, O. venulosum, O. columbianum</i>	Intestino grueso	Esofagostomosis / nodular	Regiones cálidas y húmedas
<i>Chabertia ovina, C. himalyana</i>	Intestino grueso	Chabertiosis	Climas templados
<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	Intestino delgado	Bunostomosis	Todo el mundo
<i>Gaigeria pachyscelis (sandveld hookworm)</i>	Intestino delgado	Anemia hemorrágica (gaigeriasis)	África y Asia
<i>Cooperia curticei</i>	Intestino delgado	Contribuye a los efectos de ostertagiosis y haemonchosis	Todo el mundo (común en zonas frías)
<i>Haemonchus contortus</i>	Abomaso	Haemonchosis	Todo el mundo
<i>Nematodirus spathiger and N. filicollis</i>	Intestino delgado	Nematodirosis	Todo el mundo
<i>Teladorsagia (Ostertagia) circumcincta</i>	Abomaso	Ostertagiosis	Todo el mundo
<i>Trichostrongylus axei, T. colubriformis, T. circumcincta</i>	Abomaso e intestino delgado	Trichostrongilosis	Todo el mundo
<i>Ascaris sp.</i>	Intestino grueso	Ascaridiosis	Todo el mundo en trópicos
<i>Trichuris ovis</i>	Intestino grueso	Tricuriasis	Todo el mundo
<i>Capillaria sp.</i>	Intestino grueso	Capilariosis	Todo el mundo

Fuente: Tariq (2014).

Las infecciones con nematodos gastrointestinales afectan la salud animal. El impacto de la parasitosis se caracteriza por tres mecanismos principales: reducción del consumo, daño directo de los tejidos y por ende reducción del funcionamiento de órganos dañados, y movilización de energía y proteína para el desarrollo de la respuesta inmune (Charlier *et al.*, 2017).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de los NGI es directo con un sólo hospedero, éste comprende una fase de vida libre (exógena) con influencia directa del ambiente y una fase parasitaria dentro del hospedero (endógena) influenciada por la respuesta inmune generada por la infección (Urquhart *et al.*, 1996).

La fase exógena inicia cuando los huevos de NGI son expulsados en las heces del animal al ambiente, 24 horas posteriores dependiendo de las condiciones óptimas de temperatura (28°C) y humedad (80%) los huevos eclosionan, emergiendo las larvas 1 (L₁), para posteriormente dar paso a las larvas 2 (L₂) en aproximadamente 3 días; éstas tienen una segunda muda de cutícula para transformarse en larvas 3 (L₃) o larvas infectantes, en un periodo de 4 a 7 días, la cutícula de las L₃ le permiten protegerse del medio externo, y sobreviven solamente con sus reservas alimenticias (Soulsby, 1988). Las L₃ suelen estar en constante movimiento (vertical y horizontal) en tallos y hojas de los pastos, hasta ser ingeridos por el hospedero (Soca *et al.*, 2005).

Posterior a la ingestión de las L₃ junto con el pasto por parte del hospedero, da inicio la fase endógena, las L₃ llegan al rumen donde se liberan de la cutícula protectora y penetran la mucosa del abomaso para continuar su desarrollo. A los 4-5 días aparecen las L₄ que tras una nueva muda de cutícula se transforman en preadultos (L₅) para madurar sexualmente llegando a ser adultos que copulan y comienzan a producir huevos (en algunas especies >5000 huevos por día). El periodo de prepatencia es de 2-3 semanas mientras no se desarrolle el proceso de hipobiosis larvaria (inhibición) como consecuencia de una respuesta inmune del hospedero, de situaciones ambientales adversas o de la presencia de nematodos adultos en gran cantidad, induciendo un hacinamiento inhibitorio en L₄ (Urquhart *et al.*, 1996; Besier *et al.*, 2016; Balic *et al.*, 2000). Según Vignau *et al.* (2005) las especies *Ostertagia sp*, *Haemonchus sp* y *Trichostrongylus sp* presentan hipobiosis, con periodos de hasta 6 u 8 meses.

Respuesta inmune a infección por nematodos gastrointestinales

Los rumiantes mantienen una constante interacción con los NGI, lo cual ha permitido el desarrollo de mecanismos inmunológicos, conocidos como inmunidad innata y adaptativa (Figura 1), que permiten al hospedero la eliminación de estos parásitos, mediante la activación de mecanismos de defensa no específicos, reconocimiento de antígenos somáticos de los parásitos y del inicio de una respuesta adquirida (Meeusen *et al.*, 2005).

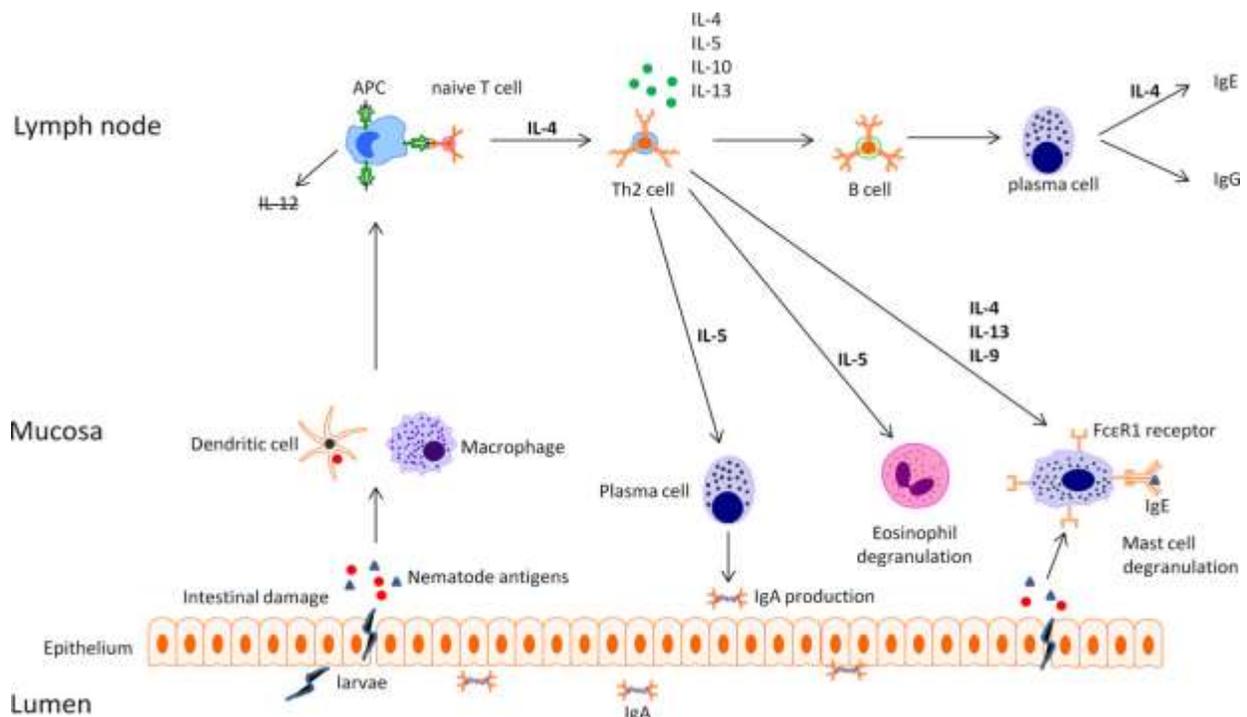


Figura 1. Respuesta inmune frente al desafío de nematodos gastrointestinales.

Fuente: McRae *et al.* (2015).

Inmunidad innata

La respuesta inmediata a la infección con NGI se conoce como respuesta innata, siendo la primera línea de defensa, donde actúan las células presentadoras de antígeno (APCs), como neutrófilos, monocitos, macrófagos, células asesinas NK (Natural Killer) y células dendríticas (Hendawy, 2018). Posteriormente ocurre una respuesta más potente, conocida como inmunidad adquirida. La inmunidad innata, consta de una fase de reconocimiento y otra efectora o de respuesta.

Primero, en la fase de reconocimiento, las células inmunitarias poseen “receptores de reconocimiento de patrones” (PRRs), que reconocen estructuras moleculares concretas en los patógenos, denominados “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs) que son activadores de la respuesta inmune. Los principales PRRs involucrados en la respuesta inmune contra parásitos son los “Toll-like receptors” (TLRs) y los “C-type lect in receptors” (CLRs), ambos receptores son expresados por células presentes en la superficie de mucosas (APCs). Por tanto, los PRRs identifican estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMPs) y asociadas a daños (DAMPs), moléculas liberadas por daños en tejidos, provocando el inicio y duración de la respuesta inflamatoria (McRae *et al.*, 2015).

Posteriormente inicia la fase efectora, una vez reconocido el parásito, los PRRs activan la liberación de mastocitos, que son células inflamatorias, capaces de producir citocinas T-helper (Th2) como IL-13, IL-4 e IL-5, activando el reclutamiento de neutrófilos, eosinófilos y células (NK), con el fin de evitar el establecimiento de los parásitos en el hospedero (McRae *et al.*, 2015).

Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida a infecciones parasitarias se desarrolla con el tiempo, siendo más eficiente que la inmunidad innata, ya que proporciona inmunidad a largo plazo contra infecciones posteriores, debido al desarrollo de memoria hacia un antígeno. Por tanto, la respuesta inmune adquirida se encuentra mediada por anticuerpos (AbMIR) o por células (CMIR). Cada uno con sus respectivas propiedades de acción. La AbMIR se encuentra regulada por citocinas T-helper 2 (Th2), como el factor estimulante de colonias de macrófagos granulares (GM-CSF) y de interleucinas (IL), IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25 y IL-33, importantes para el control de nematodos extracelulares. Por el contrario, CMIR es regulada por citocinas T-helper 1 (Th1), como la IL-12, IL-18 e interferón (IFN)- γ , dirigido a nematodos intracelulares (Karrow *et al.*, 2013).

En este tipo de inmunidad participan los componentes celulares linfocitarios T y B, conformados por diferentes isotipos de inmunoglobulinas (Ig) como (IgA, IgE e IgG), así como células NK y APCs, especialmente macrófagos y células dendríticas (McRae *et al.*, 2015; Hendawy, 2018). Para su estudio, la respuesta inmune adaptativa se divide

en tres fases: reconocimiento del antígeno, activación de los linfocitos y respuesta efectora.

Reconocimiento del antígeno. En presencias de un antígeno, las APCs como las células dendríticas y macrófagos migran a los ganglios linfáticos, presentando al antígeno a las células T a través del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II), a una subpoblación especializada de linfocitos T (T CD4+) llamados linfocitos T auxiliares (Th), importantes en la maduración de células B (McRae *et al.*, 2015). Los linfocitos Th, son los responsables de una respuesta asociado a la destrucción de parásitos intracelulares (Th1) o extracelulares (Th2).

Activación de linfocitos. Los linfocitos son células especializadas que responden a grupos concretos de antígenos, ya que presentan en su membrana receptores proteicos que permiten a estas células reconocer y recordar una molécula antigénica específica. Los receptores de los linfocitos B y T se conocen como BCR (B cell receptor) y TCR (T cell receptor), respectivamente. Los linfocitos B pertenecen a la respuesta inmune humoral, encontrados en sangre y órganos linfoides. Los linfocitos B, se caracterizan por tener inmunoglobulinas (Ig) en su superficie que son sintetizadas por el propio linfocito donde actúan como receptores de antígenos. Una vez reconocido el antígeno, se generan señales coestimuladoras provenientes de los receptores de linfocitos Th, para la proliferación y diferenciación en células plasmáticas que secretan anticuerpos de la misma especificidad que la Ig efectora. Los anticuerpos segregados se unen al antígeno junto con otras células que se encargan de neutralizarlo (Angulo-Cubillán *et al.*, 2007; McRae *et al.*, 2015).

Respuesta efectora. La respuesta efectora consta de la acción de los linfocitos Th, donde la respuesta Th1 ha sido asociada a infecciones por bacterias, protozoarios y virus extracelulares. Por esta vía se produce la IL-2 y el factor de necrosis tumoral alfa (TFNa) que promueven la respuesta celular (Alba-Hurtado y Muñoz-Guzmán, 2013).

La respuesta Th2 está mayormente asociada a los nematodos gastrointestinales, produciendo interleucinas IL-4 e IL-5, siendo la primera primordial en la producción de leucocitos globulares, además de inducir la diferenciación de linfocitos B en IgA específica, IgE e IgG, inmunoglobulinas asociadas en las respuestas alérgicas y

antihelmínticas (Lacroux *et al.*, 2006), mientras que la IL-5 tiene relación con la producción de eosinófilos, dichas interleucinas están relacionadas con el proceso de expulsión de larvas, evitando su implantación en abomaso (Meeusen *et al.*, 2005). Sin embargo, la expulsión de nematodos gastrointestinales puede variar dependiendo de la especie de parásito involucrado en la infección del hospedero (Ortolani *et al.*, 2013).

Resistencia antihelmíntica

La resistencia antihelmíntica se ha extendido en todo el mundo, siendo un tema de interés en Europa por la presencia de nematodos gastrointestinales multirresistentes, consecuencia del uso continuo de productos químicos (Papadopoulos *et al.*, 2012). La misma situación se presenta en América, con alta prevalencia de resistencia en el Sur del continente (Argentina, Brasil y Uruguay), así como en el Norte y Centro (Estados Unidos de América, México y Costa Rica), siendo un problema creciente por el deficiente manejo de los antihelmínticos, así como la escasa aplicación de métodos de control alternativos en las explotaciones pecuarias (Torres-Acosta *et al.*, 2012).

En general, la resistencia antihelmíntica se ha propiciado por diversos mecanismos, ya sea por la introducción de larvas resistentes a una unidad de producción pecuaria mediante la compra de animales, por el pastoreo de varios rebaños en un mismo lugar con distinto manejo de antihelmínticos, dosificación inadecuada de los productos químicos y repetición de un mismo grupo de antihelmíntico (Silvestre *et al.*, 2002). Además, el tratamiento de animales con productos químicos elimina parásitos susceptibles y deja aquellos con genotipos resistentes, los cuales dan paso a siguientes generaciones de larvas infectantes, propiciando el desarrollo de la resistencia (Hodgkinson *et al.*, 2019).

Se ha investigado la resistencia antihelmíntica en diferentes lugares del mundo, Crook *et al.* (2016) encontraron resistencia en la región del Atlántico medio de EE. UU en un 82% de las granjas, en los productos benzimidazoles, ivermectina, moxidectina y levamisol en el control de *Haemonchus contortus*. En México, se ha reportado resistencia antihelmíntica de *Cooperia* spp., y *Trichostrongylus colubriformis* en ovejas en pastoreo de zona templada, principalmente a productos como albendazol e ivermectina (Mondragón-Ancelmo *et al.*, 2019). Mientras tanto, en la zona tropical,

González-Garduño *et al.* (2014) reportaron resistencia antihelmíntica en corderos de pelo infectados con *Haemonchus contortus* y *Cooperia curticei*, con una eficacia de 30% para levamisol, 87%, 64% y 65% para ivermectina, albendazol y de ivermectina + levamisol, respectivamente. Además, en terneros de carne se registró resistencia antihelmíntica por parte de *Cooperia* contra ivermectina y levamisol (Muñiz-Lagunes *et al.*, 2015).

Mecanismos de control de la parasitosis

En la búsqueda de reducir el uso de productos químicos y de hacer frente a la resistencia antihelmíntica en las explotaciones de rumiantes, se han planteado diversos mecanismos de control parasitario, todos con un enfoque sostenible (Learnmount *et al.*, 2016). De los cuales, podemos hacer referencia al uso de animales genéticamente resistentes, control biológico, manejo del pastoreo, uso de plantas con propiedades antihelmínticas, uso de partículas de cobre y la suplementación alimenticia (Charlier *et al.*, 2017).

En general, todos los mecanismos de control parasitario se basan en tres principales principios de acción (Hoste y Torres-Acosta, 2011):

1. Limitar la relación huésped-parásito, la cual consiste en evitar que las larvas infectantes lleguen al hospedero, mediante técnicas en el manejo de pastoreo, así como el uso de agentes antagonistas (hongos nematófagos) que reducen larvas infectantes en campo.
2. Control basado en el uso de materiales antihelmínticos no convencionales, los cuales incluyen partes de plantas o minerales, con capacidad de eliminar o afectar biológicamente las distintas etapas de vida del nematodo gastrointestinal.
3. Mejorar la respuesta del huésped contra las infecciones por NGI, basados en principios de selección genética, a partir de cruzamiento entre razas resistentes y susceptibles, además del empleo de la nutrición, como aspecto importante en el mejoramiento de la respuesta inmune del huésped ante las constantes infecciones parasitarias.

Nutrición y sistema inmune

La nutrición es un importante modulador del sistema inmune, los nutrientes aportados en la dieta son utilizados en diversas funciones del organismo (Cuadro 2), conforme las prioridades de adquisición y expresión de la inmunidad (Coop y Kyriazakis, 1999). De tal manera, que los nutrientes satisfacen requerimientos de sustratos en células del sistema inmune, además de influir en hormonas que regulan la inmunidad y en la acción inmunomoduladora química de los no nutrientes (Paul y Dey, 2015).

Por tanto, la nutrición es vital para el desarrollo de la inmunidad contra los NGI, ya que animales bien alimentados pueden cubrir requerimientos para el mantenimiento, crecimiento, reproducción y desarrollo de la inmunidad, mientras que animales desnutridos tendrán como prioridad solamente el mantenimiento, afectando la capacidad del hospedero para hacer frente a las consecuencias del parasitismo, como soportar (resiliencia) y eventualmente superar la infección (resistencia) (Coop y Kyriazakis, 2001).

Se ha demostrado por Khan *et al.* (2012) que una buena nutrición, en especial de proteína, se mejora la resiliencia y resistencia de corderos infectados por *Haemonchus contortus*. Incluso, se considera que los mayores beneficios de suplementación sobre la resistencia del huésped son a partir de alimentos ricos en proteína en lugar de aquellos que aportan energía (Houdijk, 2012). Por tanto, existe una estrecha relación entre el estado nutricional y la capacidad del huésped para montar una respuesta inmune ante infecciones parasitarias (Colditz, 2008). En caso contrario, una mala inmunocompetencia inmunológica causada por deficiencias nutricionales puede dar como resultado una mayor incidencia y duración de infecciones parasitarias (Paul y Dey, 2015).

Cuadro 2. Nutrientes importantes en la función inmune.

Nutriente	Función inmune
Energía / lípidos	La desnutrición calórica reduce la inmunidad mediada por células. Cambios de la composición de ácidos grasos en células afecta la fagocitosis, la señalización de linfocitos T y la capacidad de presentación de antígenos.
Proteína / aminoácidos	La proteína es necesaria para la madurez de órganos involucrados en el sistema inmunitario. Se requieren aminoácidos específicos para una óptima función inmune del tejido linfoide asociado al intestino.
Minerales	
Zinc	Importante para el desarrollo y funcionamiento de células del sistema inmune (neutrófilos, células NK, fagocitosis y producción de citocinas).
Cobre	Su deficiencia afecta la respuesta inmune innata.
Cromo	Reduce el cortisol e incrementa el total de inmunoglobulinas.
Hierro	Su deficiencia compromete el sistema linfoide periférico.
Selenio	Cataliza reacciones de óxido-reducción y protege al hospedero del estrés oxidativo.
Vitaminas	
Vitamina E	Influye en la respuesta inmunitaria primaria, mediada por neutrófilos y anticuerpos, así como la estimulación de linfocitos.
Vitamina A	Influye en la celularidad de los órganos linfoides; con papel importante en la migración de células T y B al intestino.
Vitamina D	Efecto inhibitorio en la respuesta inmune adaptativa y estimulador de la proliferación de monocitos.
Vitamina C	Protege las bio-membranas contra el daño de la peroxidación lipídica; alivia la acción supresora de los corticoides sobre los neutrófilos.
Vitamina B / carotenos	La deficiencia de rivo flavina tiene efecto negativo en la actividad de macrófagos. Previenen el daño oxidativo en células del sistema inmune.

Fuente: Modificado de Paul y Dey (2015).

Ácido linoleico conjugado (ALC)

El ácido linoleico conjugado (ALC) es un conjunto de 28 isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (AL) (Figura 2), con dobles enlaces en las posiciones 9 y 10 o 10 y 12, separados por un grupo metilo (Banni, 2002; Lehnen *et al.*, 2015). Todos estos isómeros puede adoptar una configuración *cis* o *trans* (López-Bote *et al.*, 2004). Los cuales se encuentran principalmente en la carne de rumiantes, en leche y sus derivados (Haro *et al.*, 2006). En estos alimentos, los isómeros más abundantes son el ALC *cis*-9, *trans*-11 o (ácido ruménico) y el ALC *trans*-10, *cis*-12, los cuales se encuentran en un 85 a 90%, además de considerárseles importantes por los diversas propiedades biológicas y posibles beneficios en la salud humana (Kelly, 2001; Soto-Rodríguez *et al.*, 2011).

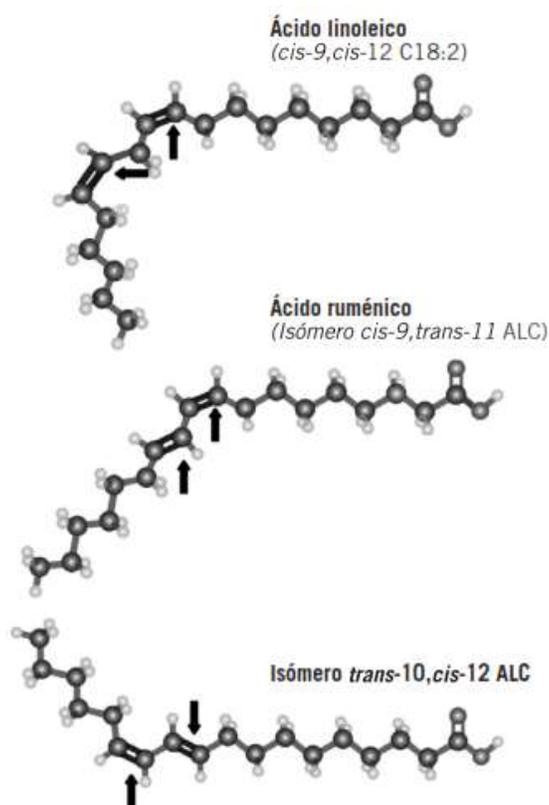


Figura 2. Estructura química del ácido linoleico y de los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 ALC.

Fuente: Haro *et al.* (2006).

Metabolismo del ALC

El ALC ruminal proviene de dos fuentes (Parodi, 1999): de la biohidrogenación en el rumen y de la síntesis de *trans*-11 C18:1 por la actividad de la Δ^9 -desaturasa (SCD) en tejido animal (Griinari *et al.*, 2000). Las dos formas en que se sintetiza el ALC se esquematizan en la (Figura 3).

La primera fuente es la biohidrogenación del ácido linoleico, proceso que inicia por la conversión de ácido linoleico en *cis*-9, *trans*-11 por la enzima linoleato isomerasa de la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kramer *et al.*, 2004) y de bacterias del ácido láctico *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Streptococcus* (Hur *et al.*, 2017). Seguido de reducciones a *trans*-11 C18:1 (ácido *trans*-vaccénico) (Chinnadurai y Tyagi, 2011). La segunda fuente es vía endógena, el *cis*-9, *trans*-11 es sintetizado en la glándula mamaria a partir del ácido *trans*-vaccénico por la enzima Δ^9 -desaturasa, siendo este isómero el más abundante en leche y la principal vía de producción de ALC (Kramer *et al.*, 2004; Kumar y Ranganathan, 2017).

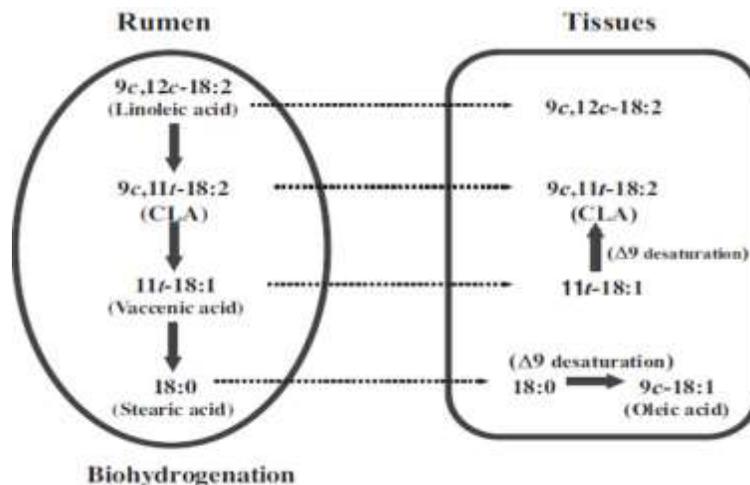


Figura 3. Vías de síntesis del ácido linoleico conjugado en rumen y tejido (glándula mamaria).

Fuente: Kumar y Ranganathan (2017).

De forma sintética se puede obtener ALC, empleado como suplemento nutricional en dietas experimentales, constituida principalmente por un 80-90% de isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, con proporciones menores de otros isómeros (Obregón y

Valenzuela, 2009). Por tanto, la diferencia en las proporciones de isómeros de ALC aportadas en la dieta puede dificultar la interpretación de resultados.

Propiedades fisiológicas

Desde 1980 hasta la actualidad se ha realizado investigación referente al ALC, donde se han documentado sus efectos biológicos en la salud humana (Park y Pariza, 2007), como son su efecto inmunomodulador, antiinflamatorio, anticancerígeno, antiadipogénico, antidiabético, antihipertensivo y antiarterioesclerótico (Lehnen *et al.*, 2015). Inicialmente se consideraba que el efecto del ALC se debía por la acción conjunta de los dos isómeros más abundantes (Park y Pariza, 2007), *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, no obstante, investigaciones recientes demuestran que los isómeros actúan de forma distintas. Al isómero *cis*-9, *trans*-11 se le atribuyen los efectos antiinflamatorios, mientras que el isómero *trans*-10, *cis*-12 es atribuido por ser anticancerígeno, antiadipogénico y antidiabético (Viladomiu *et al.*, 2016; Koba y Yanagita, 2014). Con respecto al sistema inmune, existe discrepancia si los isómeros individuales del ALC actúan en sinergia o cada uno de manera diferente (Churruga *et al.*, 2009). Debido a que las investigaciones en animales se suelen suplementar con isómeros mixtos de ALC, por lo general con la misma cantidad de *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, y en menor proporción otros isómeros (Lehnen *et al.*, 2015). Por lo que, los estudios en animales han sido variables, aunque Kelley y Erickson (2003) encontraron que isómeros puros de *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 generan el mismo efecto en las células inmunológicas de ratones.

Mecanismos de acción de ALC

Los mecanismos de acción por los cuales el ALC puede actuar en las funciones biológicas, no son claros, pero se han propuesto dos teorías. La primera se conoce como la “vía endoplásmica”, en donde el ALC actúa suprimiendo la vía biosintética del ácido araquidónico (AA), para ello se consideran tres formas de supresión, 1) ya sea por un desplazamiento del araquidonato en los fosfolípidos, 2) mediante inhibición de la enzima ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2 en ARNm, y 3) porque el ALC actúa como sustrato o antagonista de la ciclooxigenasa (COX), evitando que las enzimas Δ -6 desaturasa, elongasa y Δ -5 desaturasa estén disponible para la síntesis de ácido

araquidónico (Figura 4). Como resultado, se tiene una disminución del AA y con ello una producción reducida de eicosanoides (prostaglandina E2, prostaglandina F2alfa, leucotrieno-B4 y leucotrieno-C4) (Belury, 2002; Bani *et al.*, 2001). La segunda teoría es la “vía nuclear” (Figura 5), en la cual el ALC modula la activación de PPAR (receptores activados por el proliferador de peroxisomas) a nivel nuclear. Lo anterior sucede porque el ALC se une a PPAR combinados a RXR (retinoide receptor X) en el ADN genómico, de esta forma se modula la transcripción de genes implicados en muchas funciones del organismo (Yang *et al.*, 2015). Incluso, Schoonjans *et al.* (1996) consideran que los PPAR son responsables de traducir estímulos nutricionales, además de actuar como sensores y reguladores del metabolismo de lípidos, siendo ligandos naturales de los ácidos grasos y eicosanoides, capaces de modular la expresión génica diana (Berger y Moller, 2002).

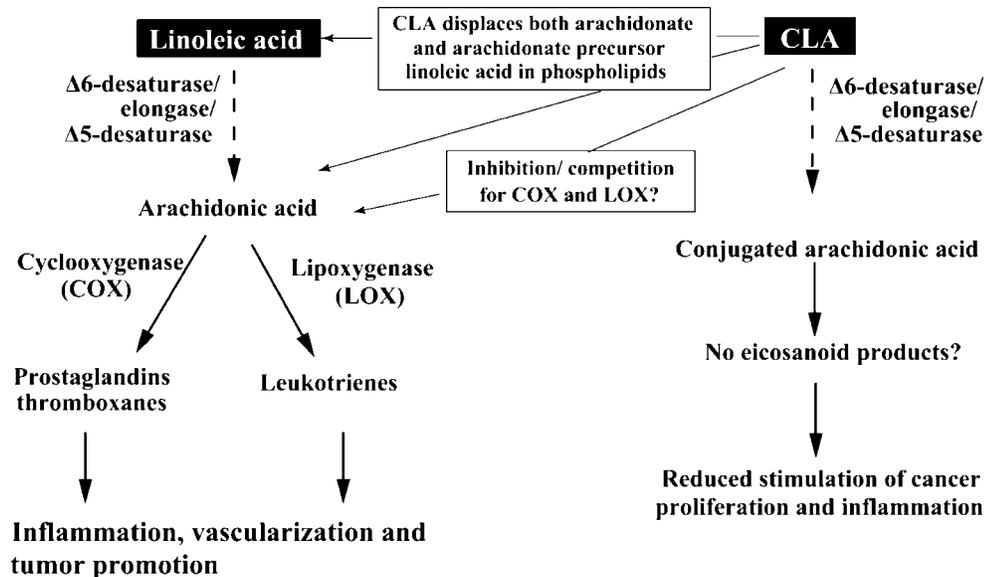


Figura 4. Síntesis de eicosanoides por vía del ácido araquidónico y su inhibición por ALC.

Fuente: Yang *et al.* (2015).

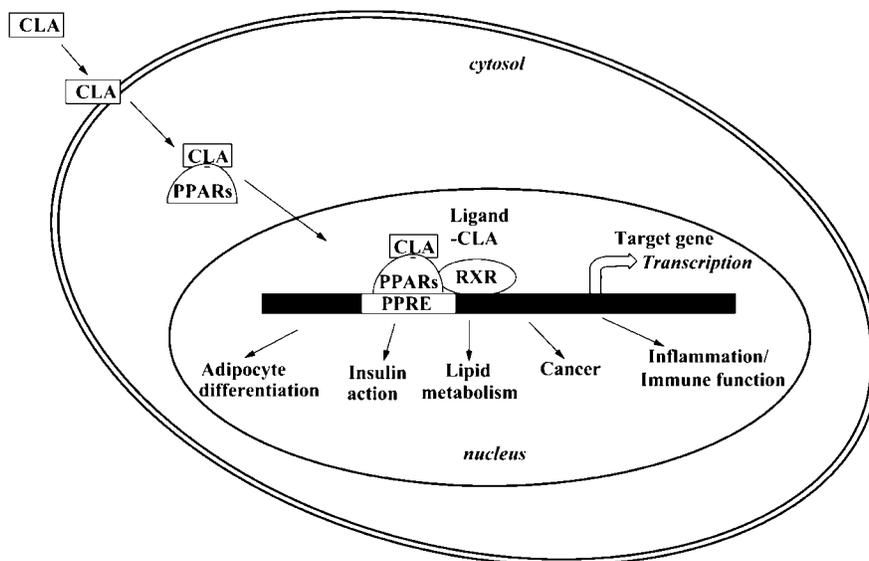


Figura 5. Mecanismo de acción “Vía nuclear” del ALC en la modulación de afecciones sistémicas.

Fuente: Yang *et al.* (2015).

Efecto del ALC en el sistema inmune

Los beneficios del ALC han sido ampliamente reportados en diversos modelos animales, describiendo su capacidad para mediar la producción de citocinas inducidas por antígeno por las células inmunes, disminuyendo los efectos adversos de inmunosupresión, y de ser mediador inflamatorio como citocinas, prostaglandinas, leucotrienos e inmunoglobulinas (Viladomiu *et al.*, 2016).

Lo anterior ha sido demostrado por Sugano *et al.* (1998), quienes reportaron que el ALC estimula la respuesta humoral, aumentando la síntesis de inmunoglobulinas (Ig), principalmente de los niveles de IgA, IgG e IgM, con disminución de IgE. Además, en humanos se han reportado beneficios del ALC en el mejoramiento de la función inmune, ya que al suplementar con 3 g d⁻¹ en proporción de 50:50 de los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, hubo un incremento de la IgA e IgM, esta última de importancia por su relación en la defensa contra infecciones (Song *et al.*, 2005). En otros estudios, He *et al.* (2007) reportaron en pollos de engorda, que al suplementar con 5.0 y 10.0 g de ALC / kg de dieta, aumentó el timo, lo que a su vez propició la proliferación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC), debido a cambios en los eicosanoides. Esta situación que ya ha sido considerada, como uno de los

principales mecanismos de acción del ALC en la respuesta inmunológica. Además, una reducción de los eicosanoides se puede relacionar a mecanismos que involucran a PPAR, situación estudiada en ratones, donde el ALC redujo la inflamación alérgica de las vías respiratorias (Jaudszus *et al.*, 2008).

De igual manera, el ALC ha sido motivo de estudio en otros modelos experimentales, es decir, en pollos de engorda se ha demostrado que la inyección in ovo de 300 ppm de ALC, aumentó los tejidos linfoides como la bolsa de Fabricius y el timo (Azadegan *et al.*, 2014), situación de importancia ya que permite incrementar la proliferación de linfocitos T y B, mejorando la inmunidad de los neonatos desde antes de su nacimiento. Sin embargo, existen otros estudios donde los efectos del ALC se observan a diferentes tiempos, en cerdos donde las condiciones higiénicas no eran las óptimas para su desarrollo, ALC indujo una proliferación de linfocitos CD8+ partir del día 42 (Bassaganya-Riera *et al.*, 2001), mientras que Lai *et al.* (2005) encontraron a los 14 y 28 días una mayor proliferación de linfocitos en relación a la concentración de ALC. Lo cual da para suponer, que el ALC expresas sus beneficios en relación de las condiciones de inmunosupresión. Sin embargo, algunos estudios han obtenido nulo efecto del ALC, ya que en cerdos suprimidos inmunológicamente suplementados con 1% de ALC, la concentración de glóbulos blancos y subpoblaciones de linfocitos se mantuvieron sin incrementos (Wiegand *et al.*, 2011), excepto para los títulos de IgG (Moraes *et al.*, 2012). Si bien, muchos de los estudios se centran en la respuesta inmunológica periférica, otros han empezado a estudiar el efecto del ALC en la inmunidad intestinal, como Liu *et al.* (2017) quienes hallaron al suplementar a pollos con 1% de ALC, un incremento de los linfocitos TCD8+ en el nodo de Peyer y de SIgA en la mucosa intestinal, así como la capacidad de restauración de la respuesta inmune en ratones infectados por *Plasmodium berghei* (Kumar *et al.*, 2011) y reducción de la carga parasitaria de *Giardia lamblia* por el aumento de células presentadoras de antígenos (CPA), como células dendríticas y macrófagos (Montalvo *et al.*, 2018), importantes al favorecer una respuesta adaptativa más eficiente ante nematodos gastrointestinales en la mucosa intestinal. Situación de interés, ya que abre la posibilidad a estudios relacionados al efecto del ALC en la respuesta inmunológica y de su relación con la reducción de cargas parasitarias.

LITERATURA CITADA

- Alba-Hurtado, F., Muñoz-Guzmán, M.A. (2013). Immune Responses Associated with Resistance to Haemonchosis in Sheep. *BioMed Research International*, 1-11.
- Angulo-Cubillán, F.J., García-Coiradas, L., Cuquerella, M., De la Fuente, C., Alunda, J.M. (2007). *Haemonchus contortus*-Sheep relationship: A review. *Revista Científica, FCV-LUV*, 17(6), 577-587.
- Azadegan, M.M., Hassanabadi, A., Ali, M.S., Kermanshasi, H. (2014). Effect of in ovo injection of conjugated linoleic acid on immune status and blood biochemical factors of broilers chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(2), 455-461.
- Balic, A., Bowles, V.M., Meeusen, E.N.T. (2000). The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Advances in Parasitology*, 45, 181-241.
- Banni, S. (2002). Conjugated linoleic acid metabolism. *Current Opinion in Lipidology*, 13(3), 261-266.
- Banni, S., Carta, G., Angioni, E., Murru, E., Scanu, P., Melis, M.P., Bauman, D.E., Fischer, S.M., Ip, C. (2001). Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *Journal of Lipid Research*, 42(7), 1056-1061.
- Bassaganya-Riera, J., Hontecillas-Magarzo, R., Bregendahl, K., Wannemuehler, M. J., Zimmerman, D.R. (2001). Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. *Journal of Animal Science*, 79(3), 714-721.
- Belury, M. A. (2002). Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 505-531.
- Berger, J., Moller, D.E. (2002). The mechanisms of action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53(1), 409-435.

- Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., Van Wyk J.A. (2016). The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. In: *Haemonchus contortus* and Haemonchosis – Past, Present and Future Trends. Gasser, R.B. and Von Samson-Himmelstjerna, G. (Eds). *Advances in Parasitology*, 90, 95-143.
- Charlier, J., Thamsborg, S.M., Bartley, D.J., Skuce, P.J., Kenyon, F., Geurden, T., Hoste, H., Willian, A.R., Sotiraki, S., Höglund, J., Chartier, C., Geldhof, P., van Dijk, J., Rinaldi, L., Morgan, E.R., von Samson-Himmelstjerna, G., Vercruysse, J., Claerebout, E. (2017). Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 217-234.
- Chinnadurai, K., Tyagi, A. (2011). Conjugated linoleic acid: A milk fatty acid with unique health benefit properties. In *Soybean and Health*. IntechOpen. Prof. Hany El-Shemy (Ed.), ISBN: 978-953-307-535-8. pp. 111-144.
- Churrua, I., Fernández-Quintela, A., Portillo, M.P. (2009). Conjugated linoleic acid isomers: Differences in metabolism and biological effects. *BioFactors*, 35(1), 105-111.
- Colditz, I.G. (2008). Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunology*, 30(2), 63-70.
- Coop, R.L., Kyriazakis, I. (1999). Nutrition-parasite interaction. *Veterinary Parasitology*, 84, 187-204.
- Coop, R.L., Kyriazakis, I. (2001). Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends in Parasitology*, 17(7), 325-330.
- 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 Ruminant Research*, 143, 89-96.

- Gárate-Gallardo, L., Torres-Acosta, J.F.J., Aguilar-Caballero, A.J., Sandoval-Castro, C.A., Cámara-Sarmiento, R., Canul-Ku, H.L. (2015). Comparing different maize supplementation strategies to improve resilience and resistance against gastrointestinal nematode infections in browsing goats. *Parasite*, 22, 19.
- González-Garduño, R., López-Arellano, M.E., Ojeda-Robertos, N., Liébano-Hernández, E., Mendoza-de Gives, P. (2014). In vitro and field diagnosis of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46(3), 399-405.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V., Bauman, D.E. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *The Journal of Nutrition*, 130(9), 2285-2291.
- Haro, A.M., Artacho, R., Cabrera-Vique, C. (2006). Ácido linoleico conjugado: interés actual en nutrición humana. *Medicina Clínica (Barc)*, 127(3), 508-515.
- He, X., Zhang, H., Yang, X., Zhang, S., Dai, Q., Xiao, W., Ren, G. (2007). Modulation of immune function by conjugated linoleic acid in chickens. *Food and Agricultural Immunology*, 18(3-4), 169-178.
- Hendawy, S.H.M. (2018). Immunity to gastrointestinal nematodes in ruminants: effector cell mechanisms and cytokines. *Journal of Parasitic Diseases*, 42(4), 471-482.
- Hodgkinson, J.E., Kaplan, R.M., Kenyon, F., Morgan, E.R., Park, A.W., Paterson, S., Babayan, S.A., Beesley, N.J., Britton, C., Chaudhry, U., Doyle, S.R., Ezenwa, V.O., Fenton, A., Howell, S.B., Laing, R., Mable, B.K., Matthews, L., McIntyre, J., Milne, C.E., Morrison, T.A., Prentice, J.C., Sargison, N.D., Williams, D.J.L., Wolstenholme, A.J., Devaney, E. (2019). Refugia and anthelmintic resistance: Concepts and challenges. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 10, 51-57.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F. (2011). Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. *Veterinary Parasitology*, 180(1-2), 144-154.

- Houdijk, J.G.M. (2012). Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*, 103(1), 41-49.
- Hur, S.J., Kim, H.S., Bahk, Y.Y., Park, Y. (2017). Overview of conjugated linoleic acid formation and accumulation in animal products. *Livestock Science*, 195, 105-111.
- Jaudszus, A., Krokowski, M., Möckel, P., Darcan, Y., Avagyan, A., Matricardi, P., Jahreis, G., Hamelmann, E. (2008). Cis-9, trans-11-Conjugated Linoleic Acid Inhibits Allergic Sensitization and Airway Inflammation via a PPAR γ -Related Mechanism in Mice. *The Journal of Nutrition*, 138(7), 1336-1342.
- Karrow, N.A., Goliboski, K., Stonos, N., Schenkel, F., Peregrine, A. (2013). Genetics of helminth resistance in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(1), 1-9.
- Kelley, D.S., Erickson, K.L. (2003). Modulation of Body Composition and Immune Cell Functions by Conjugated Linoleic Acid in Humans and Animal Models: Benefit vs Risks. *Lipids*, 38(4), 377-386.
- Kelly, G.S. (2001). Conjugated linoleic acid: A review. *Alternative Medicine Review*, 6(4), 367-382.
- 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. *Livestock Science*, 150(1-3), 143-151.
- Koba, K., Yanagita, T. (2014). Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity Research & Clinical Practice*, 8(6), e525-e532.
- Kramer, J.K.G., Cruz-Hernández, C., Deng, Z., Zhou, J., Jahreis, G., Dugan, M.E. (2004). Analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 1137S-1145S.
- Kumar, P., Ranganathan, T. (2017). Current Knowledge on Source and Synthesis of Conjugated Linoleic Acid (CLA): A Review. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 7(2), 555707.

- Kumar, R., Arora, D., Bathia, A. (2011). Therapeutic potential of bioconverted conjugated linoleic acid in drug induced immunosuppressed and infective organism induced *Plasmodium berghei*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 212-214.
- Lacroux, C., Nguyen, T.H.C., Andreoletti, O., Prevot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.P., Gruner, L., Brunel, J.C., Francois, D., Dorchies, P., Jacquiet, P. (2006). *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*, 37(4), 607-622.
- Lai, C., Yin, J., Li, D., Zhao, L., Chen, X. (2005). Effects of dietary conjugated linoleic acid supplementation on performance and immune function of weaned pigs. *Archives of Animal Nutrition*, 59(1), 41-51.
- Learmount, J., Stephens, N., Boughtflower, V., Barrecheuren, A., Rickell, K. (2016). The development of anthelmintic resistance with best practice control of nematodes on commercial sheep farms in the UK. *Veterinary Parasitology*, 229, 9-14.
- Lehnen, T.E., da Silva, M.R., Camacho, A., Marcadenti, A., Lehnen, A.M. (2015). A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and energetic metabolism. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1), 1-11.
- Liu, Y.X., Yang, J.P., Tang, G.P., Jiang, D.F. (2017). Effects of dietary conjugated linoleic acid on the intestinal mucosal immunity of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 601-607.
- López-Bote, C.J., Rey, A.I., Ortiz, L., Menoyo, D. (2004). Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado. 2. Monogástricos. Universidad Complutense de Madrid. Barcelona. Pp. 103-122.

- McRae, K. M., Stear, M. J., Good, B., Keane, O. M. (2015). The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. *Parasite Immunology*, 37(12), 605-613.
- Meeusen, E.N.T., Balic, A., Bowles, V. (2005). Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108(1-2), 121-125.
- Miller, J.E., Horohov, D.W. (2006). Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. *Journal of Animal Science*, 84, E124–E132.
- Mondragón-Ancelmo, J., Olmedo-Juárez, A., Reyes-Guerrero, D.E., Ramírez-Vargas, G., Ariza-Román, A.E., López-Arellano, M.E., Gives, P.M., Napolitano, F. (2019). Detection of Gastrointestinal Nematode Populations Resistant to Albendazole and Ivermectin in sheep. *Animals*, 9(10), 775.
- Montalvo, C.M., Puebla, C.L., López, R.G., Reyes, D.I., López, C.G., Moya, C.S.Y. (2018). El ácido linoleico conjugado aumenta la inmunidad innata de la mucosa intestinal contra el parásito *Giardia lamblia* en un modelo murino. *Nova Scientia*, 10(2), 228-246.
- Moraes, M.L., Ribeiro, A.M.L., Kessler, A.M., Ledur, V.S., Fischer, M.M., Bockor, L., Cibulski, S.P., Gava, D. (2012). Effect of CLA on performance and immune response of weanling piglets. *Journal of Animal Science*, 90, 2590-2598.
- Muñiz-Lagunes, A., González-Garduño, R., López-Arellano, M.E., Ramírez-Valverde, R., Ruíz-Flores, A., García-Muñiz, G., Ramírez-Vargas, G., Mendoza-de Gives, P., Torres-Hernández, G. (2015). Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes from grazing beef cattle in Campeche State, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 47(6), 1049-1054.
- Obregón, R.A.M., Valenzuela, B. A. (2009). Ácido linoleico conjugado (ALC), metabolismo de lípidos y enfermedad cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición*, 36(3), 258-268.

- Ortolani, E.L., do Rêgo Leal, M.L., Minervino, A.H.H., Aires, A.R., Coop, R.L., Jackson, F., Suttle, N.F. (2013). Effects of parasitism on cellular immune response in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 196(1-2), 230-234.
- Papadopoulos, E., Gallidis, E., Ptochos, S. (2012). Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. *Veterinary Parasitology*, 189, 85-88.
- Park, Y.M., Pariza, W. (2007). Mechanisms of body composition by conjugated linoleic acid (CLA). *Food International Research*, 40(3), 311-323.
- Parodi, P.W. (1999). Conjugated Linoleic Acid: The early years, in advances in conjugated linoleic acid research. Yurawecz, M.P., Mossaba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J., Eds., AOCS Press, Champaign, IL, 1-11.
- Paul, S.S., Dey, A. (2015). Nutrition in health and immune function of ruminants. *Indian Journal of Animal Sciences*, 85(2), 103-112.
- Schoonjans, K., Staels, B., Auwerx, J. (1996). Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *Journal of Lipid Research*, 37(5), 907-925.
- Silvestre, A., Leignel V., Berrag, B., Gasnier, N., Humbert, J.F., Chartier, C., Cabaret, J. (2002). Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors, *Veterinary Research*, 33(5), 465-480.
- Simpson, H.V. (2000). Pathophysiology of Abomasal Parasitism: Is the Host or Parasite Responsible? *Veterinary Journal*, 160(3), 177-191.
- Soca, M., Roque, E., Soca, M. (2005). Epizootiología de los nematodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. *Pastos y Forrajes*, 28, 175-185.
- Song, H. J., Grant, I., Rotondo, D., Mohede, I., Sattar, N., Heys, S. D., Wahle, K. W. J. (2005). Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(4), 508-517.

- Soto-Rodríguez, I., Pulido-Camarillo, E., Hernández-Díaz, G., Alexander-Aguilera, A., García, H.S. (2011). A CLA enriched diet improves organ damage associated with the metabolic syndrome in spontaneous hypertensive rats. *Grasas y Aceites*, 62(1): 49-54.
- Soulsby, E.J.L. (1988). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ma. edición. Nueva Editorial Interamericana, México. p. 823.
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi, M., Yamada, K. (1998). Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids*, 33(5), 521-527.
- Tariq, K.A. (2014). A Review of the Epidemiology and Control of Gastrointestinal Nematode Infections of Small Ruminants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85(2), 693-703.
- Torres-Acosta, J.F.J., Hoste, H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77(2-3), 159-173.
- Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J., Cuéllar-Ordaz, J.A. (2012). Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology*, 189(1), 89-96.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1996). Veterinary helminthology. *Veterinary Parasitology*, 2, 35-38.
- Van der Voort, M., Charlier, J., Lauwers, L., Vercruyssen, J., Van, G.H., Van, J.M. (2013). Conceptual framework for analysing farm-specific economic effects of helminth infections in ruminants and control strategies. *Preventive Veterinary Medicine*, 109(3-4), 228-235.
- Vignau, M.L., Venturini, L.M., Romero, J.R., Eiras, D.F., Basso, W.U. (2005). Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. p. 11-187.

- Viladomiu, M., Hontecillas, R., Bassaganya-Riera, J. (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European Journal of Pharmacology*, 785, 87-95.
- Wiegand, B.R., Pompeu, D., Thiel-Cooper, R.L., Cunnick, J.E., Parrish, F.C. (2011). Immune response and blood chemistry of pigs fed conjugated linoleic acid¹. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1588-1594.
- Yang, B., Chen, H., Stanton, C., Paul, R.R., Zhang, H., Chen, Y.Q., Chen, W. (2015). Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal of Functional Foods*, 15, 314-325.

CAPÍTULO I. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO ASOCIADO A LA RESPUESTA INMUNE Y PARASITARIA DE OVINOS PELIBUEY INFECTADOS CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la influencia del ácido linoleico conjugado (ALC) en la respuesta inmune y parasitaria de ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales (NGI). Se emplearon veinticuatro corderos Pelibuey, distribuidos homogéneamente en cuatro grupos de seis animales, alojados en corrales individuales, en un diseño completamente al azar. Se evaluaron cuatro tratamientos: T1) Desparasitado sin ALC en la dieta base; T2) Parasitado sin ALC en la dieta base; T3) Parasitado + dieta base con 1% ALC; y T4) Parasitado + dieta base con 3% ALC. Los corderos fueron parasitados experimentalmente con cuatro infecciones en los días 7, 14, 21 y 28 posteriores al inicio del experimento, con 100 larvas L₃ por kg de PV en cada infección. Se evaluó la respuesta inmune (serie blanca, roja y plaquetaria), parasitaria y productiva. Los resultados se analizaron con el Proc GLM y la comparación de medias con la prueba de Tukey, a $P \leq 0.05$. Adicionalmente se utilizaron contrastes ortogonales en las variables del comportamiento inmune. Los componentes celulares de la serie blanca fueron menores ($P \leq 0.05$) en corderos parasitados suplementados con 1% de ALC. De la serie roja, el hematocrito (HCT) y recuento de glóbulos rojos (RBC) disminuyeron ($P \leq 0.05$), y la hemoglobina corpuscular media (MCH) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) aumentaron, en corderos parasitados suplementados con ALC, mientras que el volumen corpuscular medio (MCV) aumentó respecto a corderos desparasitados sin suplementación de ALC. La hemoglobina (HGB) fue la única variable que no fue diferente entre tratamientos ($P > 0.05$). En la serie plaquetaria, el total de plaquetas (PLT), plaquetocrito (PCT) y proporción de células grandes de plaquetas (P-LCR) no fueron diferentes entre tratamientos ($P > 0.05$), pero si el total de volumen plaquetario medio (MPV) y ancho de distribución plaquetaria (PDW), con valores mayores en corderos parasitados suplementados con ALC ($P \leq 0.05$). El total de huevos de parásitos gastrointestinales por gramo de heces (HPG), la proteína plasmática (PP) y niveles de inmunoglobulinas (IgG) e (IgM) no se

modificaron entre tratamientos ($P > 0.05$). En comportamiento productivo, únicamente el consumo de materia seca (CMS) varió entre tratamientos ($P \leq 0.05$), con mayor valor en corderos parasitados suplementados con 3% de ALC. Incluir ALC en la dieta para ovinos Pelibuey en un estado de infección parasitaria, no ofreció beneficios en comportamiento inmunológico, parasitario, ni productivo.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, parasitismo, respuesta inmune, borregos Pelibuey.

CONJUGATED LINOLEIC ACID ASSOCIATED WITH THE IMMUNE AND PARASITIC RESPONSE OF PELIBUEY SHEEP INFECTED WITH GASTROINTESTINAL NEMATODES

ABSTRACT

The objective was to evaluate the influence of conjugated linoleic acid (CLA) on the immune and parasitic response of Pelibuey sheep infected with gastrointestinal nematodes (GIN). Twenty-four Pelibuey male lambs were used. They were homogeneously distributed in four groups of six animals each, placed in individual pens, in a completely randomized design. Four treatments were evaluated: T1) Disinfected + base diet without CLA; T2) Infected + base diet without CLA; T3) Infected + base diet with 1% CLA; and T4) Infected + base diet with 3% CLA. The lambs were experimentally infected with 100 L₃ larvae per kg of LW on each of four occasions on days 7, 14, 21 and 28 after the experiment began. The immune (white, red and platelet series), parasitic, and performance responses were evaluated. The results were analyzed using the Proc GLM and the means comparison through the Tukey test, $P \leq 0.05$. Additionally, orthogonal contrasts were used on the immune response variables. The cellular components of the white series were lower ($P \leq 0.05$) in infected lambs supplemented with 1% of CLA. In the red series, the hematocrit (HCT), and red blood cell count (RBC) decreased ($P \leq 0.05$), while the mean corpuscular hemoglobin (MCH) and the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) increased in infected lambs supplemented with CLA, and the mean corpuscular volume (MCV) increased with

respect to disinfected lambs without CLA supplementation. The hemoglobin (HGB) was the only variable that was not different between treatments ($P > 0.05$). In the platelet series, the total platelets (PLT), plaquetocrit (PCT) and platelets larger cell ratio (P-LCR) were not different between treatments ($P > 0.05$), but the total of mean platelet volume MPV and platelets distribution width (PDW) were, with higher values in infected lambs supplemented with CLA ($P \leq 0.05$). The gastrointestinal parasite egg count per grams of faeces (EPG), the plasma protein (PP) and the immunoglobulins (IgG) and (IgM) levels were not modified among treatments ($P > 0.05$). Regarding the animal performance, only the dry matter intake (DMI) differed between treatments ($P \leq 0.05$), being highest in infected lambs supplemented with 3% of CLA. Including CLA in the diet of Pelibuey sheep in a state of parasitic infection offered no benefits in immunological, parasitic, or productive performance.

Key words: conjugated linoleic acid, parasitism, immune response, Pelibuey sheep.

INTRODUCCIÓN

En ovinos, la parasitosis gastrointestinal afecta la salud, bienestar y productividad animal, disminuyendo la ganancia diaria de peso, producción de leche y muerte de animales susceptibles (McRae *et al.*, 2015). Por ello es imperante ofrecer alternativas de control, debido a que el uso de productos químicos ha sido la principal forma para reducir los efectos de los parásitos desde hace tiempo. Sin embargo, su constante uso ha originado una alta presión de selección en los nematodos gastrointestinales (NGI), y consecuentemente han desarrollado resistencia a dichos productos. Actualmente existen modelos alternativos de control, por ejemplo, el uso de vacunas, selección de animales genéticamente resistentes, control biológico, manejo del pastoreo, uso de plantas con propiedades antihelmínticas y suplementación alimenticia (Torres-Acosta y Hoste, 2008; Charlier *et al.*, 2017). Algunos autores han asociado este último aspecto a la expresión inmunitaria (Houdijk *et al.*, 2012), así como a la resistencia y resiliencia ante las infecciones con NGI (Torres-Acosta y Hoste, 2008). Recientemente ha crecido el interés en suplementar ovinos con ácido linoleico conjugado (ALC), ya que se deposita en carne y su consumo tiene beneficios en la salud humana, dado sus efectos anticancerígenos, antiaterogénicos, antidiabéticos, antiadipogénicos, antioxidantes e hipocolesterolémicos (Lehnen *et al.*, 2015). Adicionalmente se ha reportado que el ALC ejerce un efecto inmunomodulador (León-Sánchez *et al.*, 2014), en modelos animales (ratones, cerdos) y humanos, pero no existen tales reportes para rumiantes (Castro *et al.*, 2006), donde los ovinos tienen una función primordial en la industria ganadera mexicana. El efecto inmunomodulador del ALC se atribuye a posibles mecanismos de acción, que involucran cambios en los eicosanoides debido a que el ALC suprime la vía biosintética del ácido araquidónico, y modula la activación de receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) a nivel nuclear (Yang *et al.*, 2015), incrementando la respuesta inmune, tanto celular como humoral. En pollos de engorda, el ALC incrementa la proliferación de linfocitos (O'Shea *et al.*, 2004), principalmente de linfocitos T CD8+ a nivel intestinal (Liu *et al.*, 2017), y en ratas, el ALC incrementa la producción de inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, pero disminuye la IgE (Sugano *et al.*, 1998), aspecto importante, ya que las inmunoglobulinas actúan contra un antígeno determinado (Ramírez-Santana *et al.*, 2009). Al respecto, se ha destacado la capacidad

del ALC en el incremento de IgG en cerdos desafiados con lipopolisacáridos (Moraes *et al.*, 2012), restauración de la respuesta inmune en ratones infectados por *Plasmodium berghei* (Kumar *et al.*, 2011) y reducción de la carga parasitaria de *Giardia lamblia* por el aumento de células presentadoras de antígenos (CPA) (Montalvo *et al.*, 2018). Con estos antecedentes, se hipotetiza que la suplementación con ALC a ovinos, puede disminuir la carga parasitaria por efecto de un incremento en la respuesta inmune. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia del ácido linoleico conjugado en la respuesta inmune y parasitaria de ovinos Pelibuey infectados con nematodos gastrointestinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El experimento se realizó en un rancho particular ubicado en Pueblo Nuevo, Municipio de Salto de Agua, Chiapas, México (17° 34' LN; 92° 29' LO; 85 msnm). El clima en la región se clasifica como Af (m) w''(i)g, cálido húmedo con lluvias todo el año, con temperatura y precipitación media anual de 26.6 °C y 3289.1 mm, respectivamente.

Corderos, diseño experimental y tratamientos

Se utilizaron veinticuatro corderos Pelibuey con peso vivo inicial de 20.0 ± 3.9 kg, distribuidos en cuatro grupos de seis corderos cada uno, asignados aleatoriamente. Los corderos estuvieron alojados en corrales individuales durante 15 días de adaptación y 49 días de experimentación. El estudio consistió en un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos evaluados: T1) Desparasitado sin ALC en la dieta base; T2) Parasitado sin ALC en la dieta base; T3) Parasitado + dieta base con 1% ALC; T4) Parasitado + dieta base con 3% ALC. El estado parasitario de los corderos se realizó con cuatro infecciones experimentales de nematodos gastrointestinales (91% de *Haemonchus contortus* y 9% de *Trichostrongylus sp*), vía oral, en los días 7, 14, 21 y 28 posteriores al inicio del experimento. Cada infección experimental fue con 100 larvas L₃ por kg de peso vivo animal. Los corderos desparasitados fueron tratados con levamisol (7.5 mg kg⁻¹ PV) al inicio del experimento.

Alimentación experimental

Los corderos en experimentación se mantuvieron con una dieta base (Cuadro 1), formulada de acuerdo con el NRC (2007). El suplemento de ALC fue una mezcla de isómeros microencapsulados, que aportaron 6 g de *cis-9*, *trans-11* y 6 g de *trans-10*, *cis-12* ALC (Lutrell Pure®, BASF, Alemania). Los corderos fueron alimentados dos veces al día, 8:30 y 17:30 horas, con una ración de 2 kg por animal/día.

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4
Salvadillo de trigo	15.0	15.0	15.0	15.0
Maíz molido	44.7	44.7	44.2	42.7
Pasta de soya	9.0	9.0	9.0	9.5
Premezcla mineral*	2.0	2.0	2.0	2.0
Sal común	0.3	0.3	0.3	0.3
Melaza	1.0	1.0	1.0	1.0
Taiwan grass (<i>Pennisetum purpureum</i>)	27.0	27.0	26.5	25.5
Urea	1.0	1.0	1.0	1.0
ALC	0.0	0.0	1.0	3.0
Composición química (%)				
Materia seca	94.19	94.19	94.60	96.02
Proteína cruda	16.95	16.95	15.27	16.80
Fibra detergente neutro	19.16	19.16	19.11	18.40
Fibra detergente ácido	5.70	5.70	6.09	5.19
Extracto etéreo	3.06	3.06	3.44	3.31
Cenizas	6.26	6.26	5.86	5.68
Degradabilidad	53.66	53.66	55.10	61.94

Tratamientos: T1, Desparasitado sin ALC en la dieta base; T2, Parasitado sin ALC en la dieta base; T3, Parasitado + dieta base con 1% ALC; T4, Parasitado + dieta base con 3% ALC; *Ovinomin®: P, 5.0%; Ca, 13.0%; Mg, 6.0%; S, 0.18%; Na, 16.0%; Cl, 24.0%; Zn, 3000 ppm; Metionina de Zn, 250 ppm; Mn, 1100 ppm; Co, 125 ppm; I, 40 ppm; Se, 5 ppm.

El análisis de las dietas asignadas a cada tratamiento se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México. Durante la fase experimental se tomaron muestras de cada una de las dietas experimentales, mezclándose al final para obtener una sola muestra por dieta. Las muestras de alimento se molieron con un molino Willey con malla de 1 mm. Los análisis incluyeron materia seca, proteína cruda, cenizas y

extracto etéreo (AOAC, 2005), fibra detergente neutro (FDN), y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest *et al.*, 1991).

La digestibilidad de las dietas se realizó *in vitro* (DIVMS), utilizándose el Incubador Daysi® ANKOM® modelo D200 (ANKOM Technologies). Se utilizaron 0.5 g de muestra por dieta experimental, colocadas en bolsas ANKOM® F57 de 5 x 4 cm, tamaño de poro de 25 µm y fabricadas de poliéster/polietileno con filamentos extruidos en una matriz de tres dimensiones (ANKOM Technologies, Macedon, NY, USA). Las horas de incubación fueron 0, 3, 6, 12, y 24 h, utilizándose líquido ruminal de una vaca Jersey (50 kg PV promedio), fistulada ruminalmente.

Variables medidas

Comportamiento inmune

Cada siete días por la mañana se tomaron dos muestras de sangre por animal de la vena yugular. Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos de ensayo Vacutainer®, un tubo con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y otro con acelerador de coagulación para recuperar suero sanguíneo.

Se analizaron los componentes celulares periféricos de las series blanca, roja y plaquetaria. Para ello se utilizaron las muestras de sangre contenidas en los tubos con EDTA.

De la serie blanca se determinó el total de leucocitos, linfocitos, granulocitos, células medias y eosinófilos, utilizando un analizador hematológico (MEDONIC CA-620), excepto los eosinófilos, que se determinaron vía dilución de sangre en un colorante Carpentier (1:20), de la dilución se utilizaron 10 µl en un hemocitómetro (Neubauer, Brilliant line, USA), contabilizando el total de eosinófilos con un microscopio óptico a 10x.

En la serie roja se determinó el hematocrito (HCT) mediante la técnica de microhematocrito (Benjamin, 1991), con lo cual se obtuvo proteína plasmática (PP), que se midió con un refractómetro (g dL⁻¹). Además, se determinaron los recuentos de glóbulos rojos (RBC), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina (HGB),

hemoglobina corpuscular media (MCH) y concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), obtenidos con el analizador hematológico (MEDONIC CA-620).

La serie plaquetaria se determinó analizando el total de plaquetas (PLT), plaquetocrito (PCT), proporción de células grandes de plaquetas (P-LCR), volumen plaquetario medio (MPV) y ancho de distribución plaquetaria (PDW), utilizando el analizador hematológico (MEDONIC CA-620).

Determinación de IgG e IgM

La sangre contenida en tubos de ensayo con acelerador de coagulación se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos, dando como resultado suero sanguíneo de cada cordero, siendo almacenados a -20 °C hasta su uso en ensayos de ELISA.

Para determinar los niveles de IgG e IgM, las muestras de suero sanguíneo se analizaron usando la prueba de ELISA indirecta contra el antígeno crudo somático (CWA) de *Haemonchus contortus*, según González-Garduño *et al.* (2017).

1. El antígeno de *H. contortus* se distribuyó en placas de poliestireno (Nunc MaxiSorb, 96 pozos) a una concentración de 2.5 µg por ml de carbonatos, a pH 9.6, dejando las placas 12 horas a 4 °C.
2. Posteriormente, las placas se lavaron tres veces con PBS-T (PBS-Tween 20 al 0.05% a pH 7.2), durante 5 minutos cada lavado y en los pozos donde el antígeno no cubrió todo el espacio se bloquearon por incubación a 37 °C con 5% de leche descremada en PBS-T durante 1 h.
3. Posterior a la incubación, nuevamente se realizaron tres lavados y se adicionaron 100 µl de suero de cada animal por pozo, cada suero por duplicado, diluido en PBS-T (1:100), incubando a 37 °C durante 1 h.
4. Las placas se lavaron con PBS-T antes de adicionar a cada pozo de la placa 100 µl de solución de conjugado (rabbit anti-sheep horse radish peroxidase IgG e IgM, Bethyl Laboratories, Montgomery, AL, USA) a una dilución de 1:5000 en PBS-T, incubándose a 37 °C por 45 minutos.

5. Inmediatamente se repitió el lavado de las placas con PBS-T y se adicionó 50 μ l por pozo del sustrato TMB (tetramethyl benzidine substrate, Sigma Aldrich, USA) dejando su reacción a 20 °C por 15 minutos.
6. La reacción antígeno-anticuerpos se detuvo con 50 μ l por pozo de una solución de ácido sulfúrico 1M y se determinó la densidad óptica con un lector de placa de ELISA a una longitud de onda de 450 nm.
7. Los valores finales de IgG e IgM en el suero de cada animal se obtuvieron restando a cada pozo la densidad óptica de pozos sin suero, lo que representó la unión inespecífica del conjugado (Andronicos *et al.*, 2010). La actividad de la IgG e IgM se expresó como porcentaje de un suero estándar positivo de acuerdo con la fórmula indicada por Cardoso *et al.* (2013).

Comportamiento parasitario

Se tomaron muestras de heces directamente del recto de los corderos cada siete días, utilizando bolsas de plástico debidamente identificadas. El conteo de huevos de parásitos gastrointestinales por gramos de heces (HPG) se determinó mediante la técnica de McMaster (Thienpont *et al.*, 1986).

Comportamiento productivo

Se midieron consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversión alimenticia (CA) y eficiencia alimenticia (EA). El CMS se calculó a partir de la diferencia de alimento ofrecido y rechazado en el día por cada cordero. La GDP se obtuvo del peso final menos el peso inicial entre los días de alimentación. La CA se calculó del consumo de materia seca entre la ganancia diaria de peso y la EA de dividir la ganancia diaria de peso entre el consumo de materia seca. Para realizar los cálculos anteriores, los corderos fueron pesados semanalmente, en la mañana, antes de ofrecer el alimento. Además, diariamente se midió el rechazo de alimento de cada cordero.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el Proc GLM (SAS Institute, 2004) usando un diseño completamente al azar. Las medias se compararon con la prueba de Tukey, con una significancia estadística de $P \leq 0.05$. El peso vivo inicial se usó como covariable.

Adicionalmente se utilizaron contrastes ortogonales únicamente en las variables del comportamiento inmune, debido a que tales variables fueron significativas entre tratamientos, los contrastes utilizados fueron:

1. T1) Desparasitado sin ALC en la dieta base vs T2) Parasitado sin ALC en la dieta base.
2. T1) Desparasitado sin ALC en dieta base vs T2) Parasitado sin ALC en la dieta base; T3) Parasitado + dieta base con 1% ALC; T4) Parasitado + dieta base con 3% ALC.
3. T3) Parasitado + dieta base con 1% ALC vs T4) Parasitado + dieta base con 3% ALC.

RESULTADOS

Comportamiento inmune

Los componentes celulares de la serie blanca del sistema inmune se presentan en el Cuadro (2). El total de leucocitos, linfocitos y eosinófilos fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($P \leq 0.05$), pero no los granulocitos ($P = 0.079$) y células medianas ($P = 0.074$).

Los corderos parasitados suplementados con 0% y 3% de ALC en la dieta tuvieron mayor número total de leucocitos, indicando una mejor respuesta inmune. Contrariamente los corderos suplementados con 1% de ALC mostraron los menores recuentos de leucocitos, linfocitos y eosinófilos. Los eosinófilos de los grupos parasitados fueron mayores que los no parasitados.

Cuadro 2. Componentes celulares periféricos de la serie blanca en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.

Variables	Tratamiento				*DEM	P
	Desparasitado		Parasitado			
	0% ALC	0% ALC	1% ALC	3% ALC		
Leucocitos ($10^3 \times \mu\text{l}$)	8.72 ^{ab}	9.75 ^a	8.12 ^b	9.06 ^{ab}	2.717	0.032
Linfocitos ($10^3 \times \mu\text{l}$)	5.66 ^{ab}	6.24 ^a	5.25 ^b	5.62 ^{ab}	1.801	0.049
Granulocitos ($10^3 \times \mu\text{l}$)	0.77 ^a	0.82 ^a	0.58 ^a	0.82 ^a	0.469	0.079
Eosinófilos ($10^3 \times \mu\text{l}$)	0.13 ^b	0.28 ^a	0.12 ^b	0.24 ^{ab}	0.254	0.004
Células medianas ($10^3 \times \mu\text{l}$)	2.29 ^a	2.70 ^a	2.30 ^a	2.63 ^a	0.935	0.074

ALC, Ácido linoleico conjugado; *DEM, Desviación estándar de la media; ^{abc} Medias con distinta literal dentro de una hilera son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Los componentes celulares de la serie roja fueron diferentes ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, excepto la concentración de hemoglobina ($P > 0.05$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Componentes celulares periféricos de la serie roja en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.

Variables	Tratamiento				*DEM	P
	Desparasitado		Parasitado			
	0% ALC	0% ALC	1% ALC	3% ALC		
HCT (%)	29.63 ^a	27.26 ^{ab}	24.83 ^b	25.51 ^b	4.577	<.0001
RBC ($10^6 \times \mu\text{l}$)	10.14 ^a	8.91 ^b	7.97 ^b	8.28 ^b	1.814	<.0001
MCV (fl)	29.30 ^b	31.16 ^a	31.41 ^a	30.96 ^a	2.701	0.0006
HGB (g/dl)	10.92 ^a	10.46 ^a	10.30 ^a	10.94 ^a	1.444	0.113
MCH (pg)	10.95 ^c	12.15 ^{bc}	13.49 ^{ab}	13.90 ^a	2.635	<.0001
MCHC (g/dl)	37.37 ^c	39.08 ^{bc}	43.19 ^{ab}	44.91 ^a	7.974	<.0001

ALC, Ácido linoleico conjugado; HCT, Hematocrito; RBC, Recuento de glóbulos rojos; MCV, Volumen corpuscular medio; HGB, Hemoglobina; MCH, Hemoglobina corpuscular media; MCHC, Concentración de hemoglobina corpuscular media; *DEM, Desviación estándar de la media; ^{abc} Medias con distinta literal dentro de una hilera son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

La concentración de hematocrito fue menor cuando se suplementó con 1% y 3% de ALC a corderos parasitados. En tanto, el conteo global de eritrocitos y volumen corpuscular medio no presentaron diferencias entre los tratamientos de corderos parasitados, pero si respecto a los corderos desparasitados sin suplementación de ALC. Por otra parte, la hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular media fueron mayor al suplementar con 1 y 3% de ALC a los corderos.

Las medias de los componentes celulares de la serie plaquetaria se presentan en el Cuadro (4). No hubo diferencias significativas en el total de plaquetas, plaquetocrito y proporción de células grandes de plaquetas al suplementar con ALC, independientemente del nivel de suplementación, pero si en el volumen plaquetario

medio y ancho de distribución plaquetaria, los cuales fueron mayores en los corderos parasitados.

Cuadro 4. Componentes celulares periféricos de la serie plaquetaria en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.

Variables	Tratamiento				*DEM	P
	Desparasitado		Parasitado			
	0% ALC	0% ALC	1% ALC	3% ALC		
PLT ($10^3 \times \mu\text{l}$)	1078 ^a	1694 ^a	2005 ^a	1299 ^a	2047	0.397
PCT (%)	1.41 ^a	2.58 ^a	3.16 ^a	1.88 ^a	3.753	0.355
P-LCR (%)	89.74 ^a	77.32 ^a	75.64 ^a	83.34 ^a	23.774	0.244
MPV (fl)	8.33 ^b	9.61 ^{ab}	11.20 ^a	11.65 ^a	4.270	0.000
PDW (fl)	9.38 ^b	10.22 ^{ab}	10.75 ^a	11.26 ^a	2.356	0.000

ALC, Ácido linoleico conjugado; PLT, Plaquetas; PCT, Plaquetocrito; P-LCR, Proporción de células grandes de plaquetas; MPV, Volumen plaquetario medio; PDW, Ancho de distribución plaquetaria; *DEM, Desviación estándar de la media; ^{abc} Medias con distinta literal dentro de una hilera son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Comportamiento parasitario

Las medias de carga parasitaria y de inmunoglobulinas se muestran en el Cuadro (5). No hubo diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos en la cantidad de huevos de parásitos gastrointestinales, total de proteína plasmática, ni en los niveles de inmunoglobulinas (IgG e IgM).

Cuadro 5. Carga parasitaria y niveles de inmunoglobulinas de ovinos Pelibuey suplementados con ácido linoleico conjugado en la dieta.

Variables	Tratamiento				*DEM	P
	Desparasitado		Parasitado			
	0% ALC	0% ALC	1% ALC	3% ALC		
HPG	58.33 ^a	163.89 ^a	140.28 ^a	116.67 ^a	257.913	0.436
PP (g dL ⁻¹)	6.14 ^a	6.11 ^a	6.02 ^a	6.01 ^a	0.534	0.188
IgG	0.74 ^a	0.78 ^a	0.53 ^a	0.47 ^a	0.519	0.103
IgM	0.29 ^a	0.21 ^a	0.25 ^a	0.16 ^a	0.208	0.208

ALC, Ácido linoleico conjugado; HPG, Huevos por gramos de heces; PP, Proteína plasmática; IgG, Inmunoglobulina G; IgM, Inmunoglobulina M; *DEM, Desviación estándar de la media; ^{abc} Medias con distinta literal dentro de una hilera son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Comportamiento productivo

Las medias de consumo de materia (CMS), ganancia diaria de peso (GDP), conversión alimenticia (CA) y eficiencia alimenticia (EA) se presentan en el Cuadro (6), las cuales no fueron significativas entre tratamientos, excepto CMS que fue mayor ($P \leq 0.05$) en corderos parasitados suplementados con 3% ALC y menor en aquellos suplementados con 1% ALC.

Cuadro 6. Parámetros del comportamiento productivo en ovinos Pelibuey alimentados con ácido linoleico conjugado en la dieta.

Variables	Tratamiento				*DEM	P
	Desparasitado		Parasitado			
	0% ALC	0% ALC	1% ALC	3% ALC		
CMS (kg d ⁻¹)	1.31 ^{ab}	1.30 ^b	1.28 ^b	1.39 ^a	0.123	0.008
GDP (g d ⁻¹)	204.68 ^a	206.89 ^a	206.77 ^a	217.83 ^a	0.074	0.921
CA	7.90 ^a	7.69 ^a	6.57 ^a	7.93 ^a	4.603	0.567
EA	0.16 ^a	0.16 ^a	0.16 ^a	0.16 ^a	0.056	0.992

ALC, Ácido linoleico conjugado; CMS, Consumo de materia seca; GDP, Ganancia diaria de peso; CA, Conversión alimenticia; EA, Eficiencia alimenticia; *DEM, Desviación estándar de la media; ^{abc} Medias con distinta literal dentro de una hilera son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

Comportamiento inmune

La suplementación con ALC no mejoró la respuesta inmune en la serie blanca y, el total de los componentes celulares periféricos estuvieron en los rangos normales para ovinos (Avellanet *et al.*, 2007), contrario a lo reportado por Bassaganya-Riera *et al.* (2001), quienes demostraron que el ALC origina un aumento en el recuento de leucocitos. Se esperaba que al suplementar con ALC a ovinos Pelibuey parasitados, el total de leucocitos se incrementaría respecto a corderos sin suplementación, ya que el ALC actúa como ligando a receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR), importantes en la diferenciación celular, incrementando la respuesta inmune (Schoonjans *et al.*, 1996). Sin embargo, se observó que, al suplementar a corderos parasitados, particularmente con 1% de ALC, los valores de leucocitos, linfocitos y eosinófilos decrecieron, comportamiento debido a los linfocitos, que representan alrededor del 60% del total de los leucocitos (Ramírez, 2006). A este respecto, Moraes *et al.* (2012) reportaron que en cerdos inmunosuprimidos suplementados con ALC, el recuento total de leucocitos disminuyó, así como de linfocitos, consecuencia del estrés inducido por un lipopolisacárido (LPS). Contrariamente, Wiegand *et al.* (2011) consideran que el ALC permite incrementar el recuento de leucocitos debido a un incremento en los linfocitos, por lo que se esperaba un resultado similar en los corderos de este estudio, debido a que el ALC suprime la vía biosintética del ácido araquidónico, al competir por las mismas enzimas (Fernández-Quintela *et al.*, 2004). Esto último consecuentemente conduce a la disminución de la síntesis de eicosanoides (Sugano *et al.*, 1998), como la PGE₂, el cual es considerado como inmunosupresor general, inhibiendo la producción de IL2 e IFN- γ (Betz y Fox, 1991), quienes participan en la proliferación de linfocitos. Todo esto implica que la PGE₂ disminuye por acción del ALC, aumentando la proliferación de linfocitos, como TCD8⁺ y TCD4⁺, así como linfocitos B (Lai *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2017); sin embargo, dicho comportamiento no sucedió en el presente estudio. Por lo que se sugiere desarrollar un estudio adicional para corroborar la respuesta en corderos.

El hecho que en este estudio, el recuento linfocitario no se incrementó a medida que el ALC aumentó en la dieta, hace suponer que no hubo un efecto dosis dependiente como se esperaba, ya que dependiendo de la concentración de ALC, sería el efecto en los eicosanoides, y por ende su acción en las células inmunitarias (Moraes *et al.*, 2012). Es pertinente enfatizar que el recuento de eosinófilos fue similar entre los grupos de corderos desparasitados sin suplementación de ALC y corderos parasitados suplementados con 1% de ALC, debido a que el ALC causó una disminución de la PGE₂, afectando la producción de la IL-5 (Betz y Fox, 1991). Aunque el comportamiento con mayor dosis de ALC no coincidió con aquel del tratamiento de 1% ALC, siendo similar a los borregos parasitados sin ALC, haciendo de estos resultados confusos, toda vez que no siguen un patrón acorde a las dosis de ALC suministradas. A este respecto, Jaudszus *et al.* (2008) reportaron que el isómero *cis*-9, *trans*-11 ALC reduce los niveles de IL-5, que estimula la proliferación y diferenciación de eosinófilos, importantes por ser la primera línea de defensa contra NGI, evitando el establecimiento de larvas infectantes (McRae *et al.*, 2015). Sin embargo, en este estudio, aun suplementado con 3% ALC no generó diferencias en el recuento de eosinófilos respecto a corderos parasitados sin suplementación, lo cual hace hipotetizar que el ALC no estimula la proliferación de eosinófilos, como se suponía, basándonos en los reportes de Bassaganya-Riera *et al.* (2001) quienes encontraron aumentos de neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos en cerdos, debido a una mayor proliferación de leucocitos. El efecto del ALC depende entonces de su capacidad de modificar la función, activación y destino celular (Rodrigues *et al.*, 2016), así como el efecto de diferentes variables intrínsecas del animal. Sin embargo, se encontró una mayor proliferación de eosinófilos en corderos parasitados respecto a los no parasitados, se considera que el estado de infección con larvas L₃ indujo la proliferación de eosinófilos, ya que después de una infección parasitaria, los eosinófilos proliferan en la sangre en un proceso conocido como eosinofilia (McRae *et al.*, 2015).

Respecto a los componentes celulares periféricos de la serie roja, cuyos valores se encuentran entre los rangos normales para ovinos (Avellanet *et al.*, 2007), se modificaron al suplementar con ALC, excepto MCHC, que fue mayor al rango superior normal en corderos parasitados suplementados con 1% y 3% de ALC. El mecanismo

por el cual el ALC modificó los parámetros sanguíneos, es desconocido, y se pudiera pensar que existe un efecto del estado anímico de los animales. Por ejemplo, Moraes *et al.* (2012), encontraron que HTC, RBC, MCV y MCH en cerdos, no se modificaron al ser suplementados con ALC, pero si al inmunosuprimirlos con un LPS, cuando los recuentos sanguíneos disminuyeron. Resultados similares a nuestro estudio han sido reportados para el HCT y MCV en gallinas de postura, donde argumentan que el ALC disminuye el HTC, toda vez que al suspender tal suplementación, los parámetros regresaron a la normalidad (Koronowicz *et al.*, 2016). Aunado a esto, Ostrowska *et al.* (2004) mencionan que el ALC modifica las respuestas hematológicas en cerdos, aunque atribuye el estrés inmunológico de los animales como responsable de las diferencias de resultados a la de otros estudios.

Es importante considerar que la HGB de los corderos Pelibuey de este estudio se encontraron en los rangos normales (Ahmadi-hamedani *et al.*, 2015) y no se modificaron por efecto de la suplementación con ALC, lo cual se puede deber a un flujo constante de nutrientes aportado por la dieta, propiciando la hematopoyesis, evitando así la disminución de hierro en las células sanguíneas debido a la pérdida de sangre ocasionado por parasitosis (Sandoval, 2007). Es pertinente resaltar que los componentes sanguíneos permiten identificar cambios fisiológicos en el organismo, regulado por el aporte de nutrientes en la dieta (Koronowicz *et al.*, 2016), además de permitir el diagnóstico y evolución de enfermedades de tipo infeccioso (Gutiérrez-Castro y Corredor-Matus, 2017). En este sentido, el estado de infección con NGI puede estar afectando los parámetros sanguíneos, porque en nuestro estudio, los corderos parasitados presentaron menor porcentaje de HCT y RBC, y mayor concentración en MCV respecto a los corderos desparasitados. Tal disminución de HCT y RBC puede ser efecto del parásito *H. contortus*, ya que en nuestro estudio representó un 91% del total de NGI utilizados en las infecciones experimentales, y dado es un parásito hematófago, provoca pérdida constante de sangre en mucosa intestinal, disminuyendo entonces la concentración de glóbulos rojos (HCT). Se ha demostrado que corderos Blackbelly infectados con *H. contortus* presentan menor HCT respecto a corderos no infectados (González-Garduño *et al.*, 2018), y en ovejas Sahabadi, menor RBC (Bordoloi *et al.*, 2012), similar a lo encontrado en los corderos Pelibuey de nuestro

experimento, suplementados con 1% de ALC, que presentaron 24% de HCT, cerca del valor límite inferior (20%) para causar la muerte del animal (González-Garduño *et al.*, 2014).

Los valores mayores de MCH y MCHC encontrados en los corderos parasitados de nuestro experimento, indican la presencia de anemia, e independientemente del nivel de ALC se le atribuye a la acción hematófaga de *H. contortus*, por lo que se sugiere monitorear contantemente las variables sanguíneas para identificar animales infectados con *H. contortus*. Arece *et al.* (2015) consideran que existe una relación inversa entre las variables hematológicas, al aumentar la MCH y MCHC por efecto de *H. contortus* dado que existe una disminución del RBC, HCT y HGB, tal como se presentó en los corderos Pelibuey de nuestro estudio. Estos resultados nos hacen suponer que cierta cantidad de larvas L₃ lograron implantarse en abomaso, llegando a la fase adulta, pero sin ser reproductivas, debido a los bajos recuentos de HPG.

En relación a los componentes celulares de la serie plaquetaria de los ovinos Pelibuey, solo se modificaron el MPV y PDW, que fueron mayores en los corderos parasitados suplementados con ALC, independientemente de la concentración. Dado este resultado, es posible que el ALC afecta la agregación plaquetaria, ya que no hubo incremento de PLT en los corderos parasitados, aspecto importante, toda vez que el ALC compite con el AA, reduciendo los eicosanoides, particularmente prostaglandinas y tromboxanos (TXs) de la serie II (León-Sánchez *et al.*, 2014). Los tromboxanos (TXA₂) se sintetizan en las membranas de las plaquetas a partir del AA, y una de sus funciones es la agregación plaquetaria, que permite regular la coagulación sanguínea (Cantú *et al.*, 2017). Por tanto, entre mayor sea la síntesis de TXA₂, hay mayor control de la pérdida de sangre por lesiones en tejido ruminal ocasionado por parasitosis. De este análisis de resultados, surge entonces la idea que el ALC impidió que el AA se sintetizara en TXs, afectando la agregación plaquetaria, por lo cual las plaquetas existentes no indujeron la formación de otras plaquetas, y consecuentemente, los corderos parasitados suplementados con ALC no tuvieron incrementos de PLT, PCT y P-LCR. Adicionalmente, altos valores de MPV y PDW, así como de MCH y MCHC de la

serie roja, correlacionados con anemia, pueden usarse para identificar animales infectados por parásitos hematófagos.

Comportamiento parasitario

El total de HPG fue igual entre tratamientos, con recuento inferior a 200, valor muy por debajo del promedio esperado, dada la infección experimental con 9800 larvas L₃ por animal. Con esta infección se esperaba una excreción promedio de 14000 HPG en corderos parasitados (Ojeda-Robertos *et al.*, 2017), independientemente de la suplementación con ALC. A pesar de no haber diferencias en el total de HPG, los corderos desparasitados presentaron excreción de HPG, lo cual puede ser consecuencia de resistencia antihelmíntica por parte de parásitos adultos alojados en abomaso desde antes del inicio del experimento.

Los valores bajos de HPG en los animales del experimento, hacen suponer que la excelente nutrición de los animales no permitió que las larvas L₃ se implantaran en abomaso, siendo expulsadas vía heces, y sólo un bajo porcentaje de ellas permanecieron en el hospedero, llegando a fase adulta o permanecieron en estado de hipobiosis. A este respecto, es bien sabido que la nutrición es un mecanismo de control parasitario, permitiendo al hospedero mejorar su resistencia y resiliencia, debido que los nutrientes de la dieta son utilizados en diversas fases de adquisición y expresión de la inmunidad. Además, se mantiene una cantidad constante de nutrientes que se absorben y llegan a los tejidos, permitiendo reparar tejidos dañados por los NGI (Besier *et al.*, 2016), por lo que consideramos al aspecto nutricional como factor principal en el bajo recuento de HPG en los corderos parasitados, incluso pudo suprimir algún posible efecto del ALC en la parasitosis. De hecho, se esperaba que los corderos parasitados sin ALC tuvieran mayor HPG y menor concentración de PP, ya que existe correlación entre estos parámetros en ovinos infectados con NGI (Amarante *et al.*, 2004), pero no sucedió así en el experimento, donde los corderos mantuvieron la PP dentro los rangos normales. Una baja concentración de PP es característica de parasitosis, debido a que los NGI afectan la digestibilidad de la dieta, evitando la absorción de nutrientes y como consecuencia existe pérdida de proteína endógena (Houdijk, 2012), la cual se traduce en pérdida de PP (Amarante *et al.*, 2004). Ante este comportamiento, consideramos

que se mantuvo un flujo constante de proteína aportada por la dieta, por lo cual se mantuvieron concentraciones similares de PP independientemente de los tratamientos. En particular referencia al ALC, se ha reportado que tiene la capacidad de reducir cargas parasitarias de *Giardia lamblia* (Montalvo *et al.*, 2018), y restaurar la respuesta inmune en ratones, esto último después de ser inmunosuprimidos con *Plasmodium berghei* (Kumar *et al.*, 2011), por lo que al ALC se le atribuyen actuar como ligando y activador de receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR), los cuales están involucrados en la expresión de genes del sistema inmune (Moya-Camarena *et al.*, 1999). Ello resulta en la proliferación de linfocitos y monocitos (O`Shea *et al.*, 2004), importantes en la respuesta inmunológica ante enfermedades parasitarias (McRae *et al.*, 2015), incluso las células blancas pueden evitar la implantación y reproducción de los NGI en el hospedero.

En referencia a los títulos de IgG e IgM, éstos no variaron con la adición de ALC a la dieta de los corderos Pelibuey, incluso los valores se mantuvieron similares en todos los tratamientos, contrariamente a lo esperado, ya que se ha reportado que el ALC aumenta la producción de inmunoglobulinas en ratones (Yamasaki *et al.*, 2003), pollos (Liu *et al.*, 2017), y cerdos desafiados inmunológicamente (Moraes *et al.*, 2012). Es interesante observar que Ramírez-Santana *et al.* (2009b), encontraron que la suplementación con ALC en ratas gestantes y en lactación, contribuyeron en el desarrollo del sistema inmunitario de las crías. Lo cual indica que mejora la inmunidad innata, importante en animales jóvenes, ya que presentan una inmunidad baja ante infecciones parasitarias. Y aunque se ha reportado que el ALC puede reducir hasta en un 50% la producción de IgG (Ostrowska *et al.*, 2004), se esperaba una mayor producción de inmunoglobulinas, por la acción moduladora de citocinas debido al ALC; sin embargo, la producción de IgG e IgM fue baja, posiblemente debido a que el ALC promueve una mayor expresión de IL-2 (Bassaganya-Riera *et al.*, 2003) y disminuye a la IL-4 (Yang y Cook, 2003). Está última relacionada con la producción de inmunoglobulinas, perteneciente al grupo de citocinas Th2, donde también se encuentra la IL-5, importantes en la respuesta inmune a infecciones por nematodos gastrointestinales (McRae *et al.*, 2015). A pesar de que el ALC no tuvo un efecto en los niveles de IgG e IgM, los grupos de corderos parasitados no presentaron reacción ante

la infección con *H. contortus*, ya que de manera natural se hubieran aumentado los recuentos de eosinófilos, leucocitos e inmunoglobulinas respectivamente al grupo de corderos desparasitados (Lacroux *et al.*, 2006).

Comportamiento productivo

En el presente estudio, los animales suplementados con 1% de ALC disminuyeron el CMS, en cambio, aquellos con 3% de ALC, aumentaron tal CMS, aunque la GDP, CA y EA se mantuvieron sin cambios entre tratamientos. Estos resultados difieren a lo reportado por Azain *et al.* (2000), Pinelli-Saavedra *et al.* (2019), Wynn *et al.* (2006) y Granados-Rivera *et al.* (2017), en ratones, cerdos, ovinos y vacas lactantes, respectivamente. Los mecanismos del ALC en la regulación del consumo se desconocen, pero es posible que el olor y sabor del ALC influya en la palatabilidad del alimento, provocando aversión, por lo menos en ovinos (West *et al.*, 1998), y por tanto el CMS disminuye. Aunque también se puede considerar que el ALC causa disminución del CMS, debido a que su ingesta aumenta el gasto energético (Terpstra *et al.*, 2002), como consecuencia de cambios en la deposición de grasa corporal (Fernández-Quintela *et al.*, 2004), por lo que se hipotetiza que, si la grasa corporal se reduce por la suplementación de ALC, entonces se requiere menos energía de mantenimiento, y por ende una reducción en el consumo.

Se esperaba que el ALC mejorara los parámetros productivos en ovinos, debido a su capacidad de regular el metabolismo de energía y la partición de nutrientes (Wiegand *et al.*, 2001), incluso del aumento de proteínas circulantes (Park *et al.*, 1997), importantes en el crecimiento de los animales, pero no fue así en el presente experimento. En contraste, Thiel-Cooper *et al.* (2001) y Pinelli-Saavedra *et al.* (2019) reportaron un aumento en la GDP por efecto del ALC, así como mejor EA en cerdos, ratas y vacas lactantes (Chin *et al.*, 1994; Dugan *et al.*, 1997; Granados-Rivera *et al.*, 2017). Al respecto, es posible que el ALC afecte los parámetros productivos por cambios metabólicos (Lehnen *et al.*, 2015), principalmente por un aumento en la tasa metabólica (West *et al.*, 1998), cambios en la acción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y de la interleucina-1 (IL-1), evitando el catabolismo del músculo esquelético

(Pariza *et al.*, 2000), y por tanto los nutrientes de la dieta son aprovechados más eficientemente, mejorando la ganancia de peso de los animales.

Es pertinente enfatizar que posiblemente los efectos del ALC en la respuesta productiva de los corderos Pelibuey en el presente estudio no se apreciaron debido al factor nutricional, toda vez que la dieta ofrecida cubría los requerimientos nutricionales de los animales. Además, consideramos que algunos ingredientes pueden estar modificando la concentración de ALC total aportada por la dieta. Por ejemplo, el maíz, soya y forraje utilizados en la dieta de los animales experimentales contienen ácido linoleico (Haro *et al.*, 2006), precursor del ALC en el rumen (Yang *et al.*, 2015), condicionando la síntesis individual de ALC a diferente nivel. Lo anterior, nos lleva a suponer que se modificó la concentración de ALC en los fosfolípidos de la membrana, y a su vez la acción celular. Incluso los corderos infectados con nematodos gastrointestinales presentaron similar productividad que los corderos desparasitados. En este sentido, la dieta mejoró la resistencia y resiliencia de los corderos, tanto que no se presentó la reducción de consumo característica por parasitosis.

CONCLUSIÓN

Incluir ácido linoleico conjugado en la dieta de ovinos Pelibuey no ofreció beneficios en la respuesta inmunológica ni parasitaria. Se asume que el factor nutrición tuvo una función esencial en tal respuesta, toda vez que las necesidades nutricionales de los animales experimentales, fueron cubiertas, posicionando entonces al factor nutrición como un excelente mecanismo de control ante infecciones parasitarias. Es posible que este aspecto nutricional enmascaró los efectos del ácido linoleico conjugado en los ovinos del presente estudio, por lo que futuras investigaciones deberían enfocarse a su efecto interactivo con otros componentes de la dieta.

LITERATURA CITADA

- Ahmadi-hamedani, M., Ghazvinian, K., Atyabi, N., Khanalizadeh, P., Ali, M.M., Sadegh, G.M. (2015). Hematological reference values of healthy adult Sangsari sheep (Iranian fat-tailed sheep) estimated by Reference Value Advisor. *Comparative Clinical Pathology*, 25(2), 459-464.
- Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., Rocha, R.A., Gennari, S.M. (2004). Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. *Veterinary Parasitology*, 120(1-2), 91-106.
- Andronicos, N., Hunt, P., Windon, R. (2010). Expression of genes in gastrointestinal and lymphatic tissues during parasite infection in sheep genetically resistant or susceptible to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. *International Journal of Parasitology*, 40(4), 417-429.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. Edition 18. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. USA.
- Arece, G.J., Sanavria, A., Soca, M., da Fonseca, A.H., Fidlarczyk, M.R., Clara da Silva, L., Maria, T.A., Zen, G.O. (2015). Relationship of some hematological indicators with gastrointestinal parasites in sheep. *Revista de Salud Animal*, 37(2), 133-135.
- Avellanet, R., Cuenca, R., Pastor, J., Jordana, J. (2007). Parámetros hematológicos y bioquímico clínicos en la raza ovina Xisqueta. *Archivos de Zootecnia*, 56(1), 497-501.
- Azain, M.J., Hausman, D.B., Sisk, M.B., Flatt, W.P., Jewell, D.E. (2000). Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *The Journal of Nutrition*, 130(6), 1548-1554.
- Bassaganya-Riera, J., Hontecillas-Magarzo, R., Bregendahl, K., Wannemuehler, M. J., Zimmerman, D.R. (2001). Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. *Journal of Animal Science*, 79(3), 714-721.

- Bassaganya-Riera, J., Pogranichniy, R.M., Jobgen, S.C., Halbur, P.G., Yoon, K.-J., O'Shea, M., Mohede, I., Hontecillas, R. (2003). Conjugated Linoleic Acid Ameliorates Viral Infectivity in a Pig Model of Virally Induced Immunosuppression. *The Journal of Nutrition*, 133(10), 3204-3214.
- Benjamin, M.M. (1991). Manual de Patología Clínica en Veterinaria, México, D.F. Limusa. pp. 7-20, 87-94.
- Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., Van Wyk J.A. (2016). The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Advances in Parasitology*, 90, 95-143.
- Betz, M., Fox, S.B. (1991). Prostaglandin E2 inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines. *The Journal of Immunology*, 146, 108-113.
- Bordoloi, G., Jas, R., Ghosh, J.D. (2012). Changes in the haemato-biochemical pattern due to experimentally induced haemonchosis in Sahabadi sheep. *Journal of Parasitic Diseases*, 36(1), 101-105.
- Cantú, S.M., Jin, L.H., Donoso, A., Puyó, A.M., Peredo, H.A. (2017). El ácido araquidónico y sus derivados: generalidades de los prostanoïdes en relación con procesos inflamatorios. *Ciencia e Investigación*, 67(4), 5-12.
- Cardoso, C.P., Silva, B.F., Trinca, L.A., Amarante, A.F. (2013). Resistance against gastrointestinal nematodes in Crioulo Lageano and crossbred Angus cattle in Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 192, 183-191.
- Castro, N., Capote, J., Martín, D., Argüello, A. (2006). The influence of dietary conjugated linoleic acid on blood serum and colostrum immunoglobulin G concentration in female goats before and after parturition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(9-10), 429-431.
- Charlier, J., Thamsborg, S.M., Bartley, D.J., Skuce, P.J., Kenyon, F., Geurden, T., Hoste, H., Willian, A.R., Sotiraki, S., Höglund, J., Chartier, C., Geldhof, P., van Dijk, J., Rinaldi, L., Morgan, E.R., von Samson-Himmelstjerna, G., Vercruyse, J., Claerebout, E. (2017). Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal

- nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 217-234.
- Chin, S.F., Storkson, J.M., Albright, K.J., Cook, M.E., Pariza, M.W. (1994). Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *The Journal of Nutrition*, 124(12), 2344-2349.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Kramer, J.K.G. (1997). The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 77, 723-725.
- Fernández-Quintela, A., Rodríguez, V.M., Portillo, M.P. (2004). Ácido linoleico conjugado y grasa corporal. *Revista Española de Obesidad*, 2, 71-79.
- González-Garduño, R., López-Arellano, M.E., Conde-Felipe, M.M., Mendoza-de Gives, P., Aguilar-Marcelino, L., Jaso-Díaz, G. (2017). Immune and haematological parameters of Blackbelly ewes infected with gastrointestinal nematodes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 30(3), 219-230.
- González-Garduño, R., Mendoza-de Gives, P., López-Arellano, M.E., Aguilar-Marcelino, L., Torres-Hernández, 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. *Experimental Parasitology*, 193, 20-26.
- González-Garduño, R., Torres-Acosta, J.F., Chay-Canul, A.J. (2014). Susceptibility of hair sheep ewes to nematode parasitism during pregnancy and lactation in a selective anthelmintic treatment scheme under tropical conditions. *Research in Veterinary Science*, 96(3), 487-492.
- Granados-Rivera, L.D., Hernández-Mendo, O., González-Muñoz, S.S., Burgueño-Ferreira, J.A., Mendoza-Martínez, G.D., Arriaga-Jordán, C.M. (2017). Effect of palmitic acid on the mitigation of milk fat depression syndrome caused by trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid in grazing dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, 71(6), 428-440.

- Gutiérrez-Castro, L.L., Corredor-Matus, J.R. (2017). Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Revista de Veterinaria y Zootecnia*, 11(2), 81-92.
- Haro, A.M., Artacho, R., Cabrera-Vique, C. (2006). Ácido linoleico conjugado: interés actual en nutrición humana. *Medicina Clínica (Barc)*, 127(3), 508-515.
- Houdijk, J.G.M. (2012). Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*, 103(1), 41-49.
- Jaudszus, A., Krokowski, M., Möckel, P., Darcan, Y., Avagyan, A., Matricardi, P., Jahreis, G., Hamelmann, E. (2008). Cis-9, trans-11-Conjugated Linoleic Acid Inhibits Allergic Sensitization and Airway Inflammation via a PPAR γ -Related Mechanism in Mice. *The Journal of Nutrition*, 138(7), 1336-1342.
- Koronowicz, A.A., Banks, P., Szymczyk, B., Leszczyńska, T., Master, A., Piasna, E., Szczepański, W., Domagała, D., Kopeć, A., Piatkowska, E., Laidler, P. (2016). Dietary conjugated linoleic acid affects blood parameters, liver morphology and expression of selected hepatic genes in laying hens. *British Poultry Science*, 57(5), 663-673.
- Kumar, R., Arora, D., Bathia, A. (2011). Therapeutic potential of bioconverted conjugated linoleic acid in drug induced immunosuppressed and infective organism induced *Plasmodium berghei*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 212-214.
- Lacroux, C., Nguyen, T.H.C., Andreoletti, O., Prevot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.P., Gruner, L., Brunel, J.C., Francois, D., Dorchies, P., Jacquiet, P. (2006). *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*, 37(4), 607-622.
- Lai, C., Yin, J., Li, D., Zhao, L., Chen, X. (2005). Effects of dietary conjugated linoleic acid supplementation on performance and immune function of weaned pigs. *Archives of Animal Nutrition*, 59(1), 41-51.

- Lehnen, T.E., da Silva, M.R., Camacho, A., Marcadenti, A., Lehnen, A.M. (2015). A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and energetic metabolism. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1), 1-11.
- León-Sánchez, J.R., Salgado-Cruz, M. de la P., Sánchez-Mundo, M. de la L., Cortés-Sánchez, A.J. (2014). Ácido linoleico conjugado: de la naturaleza al uso de la biotecnología. *Revista Cubana de Química*, 26(3), 235-258.
- Liu, Y.X., Yang, J.P., Tang, G.P., Jiang, D.F. (2017). Effects of dietary conjugated linoleic acid on the intestinal mucosal immunity of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 601-607.
- McRae, K. M., Stear, M. J., Good, B., Keane, O. M. (2015). The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. *Parasite Immunology*, 37(12), 605-613.
- Montalvo, C.M., Puebla, C.L., López, R.G., Reyes, D.I., López, C.G., Moya, C.S.Y. (2018). El ácido linoleico conjugado aumenta la inmunidad innata de la mucosa intestinal contra el parásito *Giardia lamblia* en un modelo murino. *Nova Scientia*, 10(2), 228-246.
- Moraes, M.L., Ribeiro, A.M.L., Kessler, A.M., Ledur, V.S., Fischer, M.M., Bockor, L., Cibulski, S.P., Gava, D. (2012). Effect of CLA on performance and immune response of weanling piglets. *Journal of Animal Science*, 90, 2590-2598.
- Moya-Camarena, S.Y., Vanden, H. J.P., Blanchard, S.G., Leesnitzer, L.A., Belury, M.A. (1999). Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPAR α . *Journal of Lipid Research*, 40(8), 1426-33.
- NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, Natl. Acad. Sci., 1st ed. National Academic Press, Washington, DC.

- O'Shea, M., Bassaganya-Riera J., Mohede, C.M. (2004). Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 1199-1206.
- Ojeda-Robertos, N.F., Torres-Acosta, J.F.J., González-Garduño, R., Notter, D.R. (2017). Phenotypic expression of parasite susceptibility to *Haemonchus contortus* in Pelibuey sheep. *Veterinary Parasitology*, 239, 57-61.
- Ostrowska, E., Knowles, A., Muralitharan, M., Cross, R.F., Bauman, D.E., Dunshea, F.R. (2004). Effects of dietary conjugated linoleic acid on haematological and humoral responses in the grower pig. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(7), 711-718.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E. (2000). Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 223(1), 8-13.
- Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E., Pariza, M.W. (1997). Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32(8), 853-858.
- Pinelli-Saavedra, A., González-Ríos, H., Dávila-Ramírez, J.L., Islava-Lagarda, T.V., Esquerria-Brauer, I.R. (2019). Dietary conjugated linoleic acid (CLA) has comparable effects to ractopamine on the growth performance, meat quality and fatty acid profiles of loin muscles of finishing pigs under commercial husbandry. *Italian Journal of Animal Science*, 1-10.
- Ramírez, L. (2006). Los leucocitos en mamíferos domésticos. *Mundo Pecuario*, 2(2), 37-39.
- Ramírez-Santana, C., Castellote C., Castell M., Rivero M., Rodríguez-Palmero, M., Franch A., Pérez-Cano, F.J. (2009). Long-Term Feeding of the *cis-9, trans-11* Isomer of Conjugated Linoleic Acid Reinforces the Specific Immune Response in Rats. *The Journal of Nutrition*, 139, 76-81.
- Ramírez-Santana, C., Pérez-Cano, F.J., Castellote, C., Castell, M., Rivero, M., Rodríguez-Palmero, M., Franch, A. (2009b). Higher immunoglobulin production in

- conjugated linoleic acid –supplemented rats during gestation and suckling. *British Journal of Nutrition*, 102(6), 858-868.
- Rodrigues, H.G., Takeo, S.F., Curi, R., Vinolo, M.A.R. (2016). Fatty acids as modulators of neutrophil recruitment, function and survival. *European Journal of Pharmacology*, 785, 50-58.
- Sandoval, E., Morales, G.M., Jiménez, D., Pino, L.A., Márquez, O. (2007). Efecto de tratamientos antiparasitario y antianémico sobre la ganancia de peso e indicadores hematoquímicos en ovejas tropicales infectadas en condiciones naturales. *Zootecnia Tropical*, 45(4), 285-290.
- SAS Institute Inc. (2004). SAS/STAT® User`s Guide, Version 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schoonjans, K., Staels, B., Auwerx, J. (1996). The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1302(2), 93-109.
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi, M., Yamada, K. (1998). Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats. *Lipids*, 33(5), 521-527.
- Terpstra, A.H.M., Beynen, A.C., Everts, H., Kocsis, S., Katan, M.B., Zock, P.L. (2002). The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *The Journal of Nutrition*, 132(5), 940-945.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, F.C.Jr., Sparks, J.C., Wiegand, B.R., Ewan, R.C. (2001). Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *Journal of Animal Science*, 79(7), 1821-1828.
- Thienpont, D., Rochette, F., Vanparijs, O.F.J. (1986). Diagnóstico de las Helmintiasis por Medio del examen Coprológico. Janssen Research Foundation, Beerse, Bélgica. pp. 19-43.

- Torres-Acosta, J.F.J., Hoste, H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77(2-3), 159-173.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B, Lewis, B.A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- West, D.B., Delany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J. (1998). Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *American Journal of Physiology*, 275(3), R667-R672.
- Wiegand, B.R., Parrish, F.C., Swan, J.E., Larsen, S.T., Baas, T.J. (2001). Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in stress-genotype pigs. *Journal of Animal Science*, 79(8), 2187-2195.
- Wiegand, B.R., Pompeu, D., Thiel-Cooper, R.L., Cunnick, J.E., Parrish, F.C. (2011). Immune response and blood chemistry of pigs fed conjugated linoleic acid¹. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1588-1594.
- Wynn, R.J., Daniel, Z.C.T.R., Flux, C.L., Craigon, J., Salter, A.M., Buttery, P.J. (2006). Effect of feeding rumen-protected conjugated linoleic acid on carcass characteristics and fatty acid composition of sheep tissues. *Journal of Animal Science*, 84, 3440-3450.
- Yamasaki, M., Chujo, H., Hirao, A., Koyanagi, N., Okamoto, T., Tojo, N., Oishi, A., Iwata, T., Yamauchi-Sato, Y., Yamamoto, T., Tsutsumi, K., Tachibana, H., Yamada, K. (2003). Immunoglobulin and Cytokine Production from Spleen Lymphocytes Is Modulated in C57BL/6J Mice by Dietary Cis-9, Trans-11 and Trans-10, Cis-12 Conjugated Linoleic Acid. *The Journal of Nutrition*, 133(3), 784-788.

- Yang, B., Chen, H., Stanton, C., Paul, R.R., Zhang, H., Chen, Y.Q., Chen, W. (2015). Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal of Functional Foods*, 15, 314-325.
- Yang, M., Cook, M.E. (2003). Dietary Conjugated Linoleic Acid Decreased Cachexia, Macrophage Tumor Necrosis Factor- α Production, and Modifies Splenocyte Cytokines Production. *Experimental Biology and Medicine*, 228(1), 51-58.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Incluir ácido linoleico conjugado en la dieta de ovinos Pelibuey no ofreció beneficios en la respuesta inmunológica ni parasitaria. Se asume que el factor nutrición tuvo una función esencial en tal respuesta, toda vez que las necesidades nutricionales de los animales experimentales, fueron cubiertas, posicionando entonces al factor nutrición como un excelente mecanismo de control ante infecciones parasitarias. Es posible que este aspecto nutricional enmascaró los efectos del ácido linoleico conjugado en los ovinos del presente estudio, por lo que futuras investigaciones deberían enfocarse a su efecto interactivo con otros componentes de la dieta.

Los resultados obtenidos en el presente estudios no son concluyentes, es necesario realizar investigaciones reformulando el modelo de infección experimental con nematodos gastrointestinales, para obtener resultados que justifiquen el nulo efecto de la suplementación con ALC en la respuesta inmune, parasitaria y productiva de ovinos Pelibuey. Es de importancia considerar la evaluación en animales durante los primeros días de vida (inmunidad innata), estando en experimentación durante tiempos más prolongados, para tener mayor información de la respuesta inmunológica adaptativa, ya que las investigaciones se basan en efectos inmediatos del ALC, y posiblemente se esté obviando un posible efecto benéfico del ALC.

Adicionalmente, se deben de realizar estudios que permitan identificar los procesos inmunológicos locales al evaluar células inmunológicas de la mucosa intestinal, debido a que en el presente estudio se contabilizaron células periféricas, lo cual hace suponer que las células de la mucosa pueden aportar mayor información al efecto de suplementar con ALC, ya que la respuesta inmunológica del hospedero se ejerce con la interacción del antígeno, en este caso, al ingresar los nematodos gastrointestinales al abomaso.