

EN

Factors affecting the immune response of hairy lambs on the first infection with gastrointestinal nematodes in a hot humid climate in Mexico

ES

Factores que afectan la respuesta inmune de corderos de pelo en la primera infección con nematodos gastrointestinales en un clima cálido húmedo de México

Maritza Zaragoza-Vera; Oswaldo Margarito Torres-Chable;
Guadalupe Arjona-Jiménez ; Claudia Virginia Zaragoza-Vera*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación Salud Animal en el Trópico Húmedo, carretera Villahermosa-Teapa, km 25, C. P. 86280. Villahermosa, Tabasco, México.

*Corresponding author:
claudia.zaragoza@ujat.mx

Received: December 1, 2020 /
Accepted: January 24, 2021

DOI:
10.5154/r.rchsat.2021.01.02

Abstract

The objective was to determine the influence of some on faecal nematode egg counts (FEC), immunological, hematological and productive indices of Pelibuey, Blackbelly and Katahdin lambs during their first natural infection in mountain range region of Tabasco, Mexico. Every month for a year, six lambs were introduced to grazing, where they remained for 30 days and subsequently stabled for 30 days. A sampling was carried out before and after grazing (day -5 and 30), then at 45 and 60 days after stabling. The number of nematode eggs per gram of feces (EPG), agglomerated cell volume (ACV) and plasma protein (PP) level were recorded, the total and differential leukocytes count was also performed and the IgA level was estimated by indirect ELISA. The data was analyzed with a repeated measures model over time. Increased infection was observed from October to December with 7933 to 13983 EPG, while from February to April the number of EPG ranged between 2300 to 2600 EPG. At 60 days post-infection, Pelibuey lambs showed higher EPG than the Katahdin and Blackbelly breeds. The Katahdin breed had highest ACV and PP ($P < 0.05$). Subsequently, the ACV decreased due to the presence of *H. contortus*. There was no significant IgA response compared to the positive control (less than 6.9 %). It is concluded that immunological parameters for first-infected lambs do not allow to reduce the effects of gastrointestinal nematodes.

Keywords: Antibody, gastrointestinal nematodes, serum, sheep, somatic antigen.

Resumen

El objetivo fue determinar la influencia de algunos factores en los conteos fecales de huevos de nematodos (CFH), índices inmunológicos, hematológicos y productivos de corderos Pelibuey, Blackbelly y Katahdin durante su primera infección natural en la región de la Sierra del estado de Tabasco, México. Cada mes durante un año, se introdujeron seis corderos a pastoreo, donde permanecieron 30 días y posteriormente se estabularon durante 30 días.

Please cite this article as follows (APA 6): Zaragoza-Vera, M., Torres-Chable, O. M., Arjona-Jiménez, G., & Zaragoza-Vera, C. V. (2021). Factors affecting the immune response of hairy lambs on the first infection with gastrointestinal nematodes in a hot humid climate in Mexico. *Revista Chapingo Serie Agricultura Tropical*, 1(1), 19-36. doi: <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsat.2021.01.02>

Se realizó un muestreo antes y al finalizar el pastoreo (día -5 y 30), después a los 45 y 60 días de la estabulación. Se registró el número de huevos de nematodos por gramo de heces (HPG), volumen celular aglomerado (VCA) y nivel de proteína plasmática (PP), también se realizó el conteo total y diferencial de leucocitos y se estimó el nivel de IgA por ELISA indirecta. Los datos fueron analizados con un modelo de medidas repetidas en el tiempo. El incremento de la infección se observó de octubre a diciembre con 7 933 a 13 983 HPG, mientras que de febrero a abril el número de HPG osciló entre 2 300 a 2 600 HPG. A los 60 días post-infección, los corderos Pelibuey presentaron mayor HPG que las razas Katahdin y Blackbelly. En la raza Katahdin se observó el mayor VCA y PP ($P < 0.05$). Posteriormente, el VCA disminuyó por la presencia de *H. contortus*. No se obtuvo una respuesta importante de IgA respecto al control positivo (menos de 6.9 %). Se concluye que los parámetros inmunológicos en los corderos primo-infectados no permiten reducir los efectos de los nematodos gastrointestinales.

Palabras clave: Anticuerpos, suero, ovinos, antígeno somático.

Introduction

The production of grazing sheep in hot climates is strongly limited by gastrointestinal nematode infection (GNI), which high prevalence is due to favorable conditions of high temperature and humidity common in tropics (Morgan & Van Dijk, 2012; Torres-Acosta et al., 2012). Lambs are the most affected because their immune system has limitations and develops slowly, also, high levels of infection can be life-threatening (Greer, 2008). Therefore, a diagnosis at the beginning of the disease is important. The diagnosis of gastrointestinal parasites (GIP) has generally been carried out by means of coprological studies with quantitative methods such as the McMaster technique (Thienpont D, Rochette F, & Vanparijs O., F.J., 1986), which determines the fecal egg count in stool (FEC) and indirectly estimates the population of adult parasites in the animal (Kemper et al., 2010).

When infections occur in the field, the diagnosis has a particular importance because the level of infection depends on many factors that determine the species and population of parasites affecting the hosts.

The determination of the nematode species is important because the clinical signs in the animal depend on the parasite load and the pathogenicity of the parasites. The risk of parasitosis is different throughout the year and is related to the prevalence of the parasite and its prolificacy. Therefore, it is essential to know the prevalence, especially when hosts are parasitized by various species of GNI. Among the species that stand out in different climates we found the following: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum* and *Trichuris ovis* (Craig B., H., Pilkington J., G., & Pemberton J., M. 2006; González Garduño, R., Córdoba-Pérez, C., Torres-Hernández, G., Mendoza de

Introducción

La producción de ovinos en pastoreo en climas cálidos se encuentra fuertemente limitada por la infección por nematodos gastrointestinales (NGI), cuya alta prevalencia se debe a las condiciones favorables de alta temperatura y humedad frecuente en los trópicos (Morgan & Van Dijk, 2012; Torres-Acosta et al., 2012). Los corderos son los individuos más afectados por que su sistema inmunológico presenta limitaciones y se desarrolla lentamente, además, los altos niveles de infección pueden llegar a poner en riesgo la vida de los animales (Greer, 2008). Es por ello, que un diagnóstico al inicio de la enfermedad es importante. El diagnóstico de los parásitos gastrointestinales (PGI) generalmente se ha realizado mediante estudios coprológicos, con métodos cuantitativos como la técnica de McMaster (Thienpont D, Rochette F, & Vanparijs O., F.J., 1986), con la que se determina el conteo fecal de huevos en heces (CFH) y de manera indirecta se estima la población de parásitos adultos dentro del animal (Kemper et al., 2010). Cuando las infecciones ocurren en campo, el diagnóstico tiene particular importancia porque el nivel de infección depende de muchos factores que determinan la especie y la población de parásitos que afectan a los hospederos.

La determinación de la especie de nematodo es importante porque los signos clínicos en el animal dependen de la carga parasitaria y de la patogenicidad de los parásitos. El riesgo de parasitosis es diferente a lo largo del año y está, en relación con la prevalencia del parásito y de su prolificidad. Por lo anterior, es requisito indispensable conocer la prevalencia, sobre todo, cuando los hospederos se parasitan con diversas especies de NGI. Entre las especies que destacan en diversos climas se encuentran: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum* y *Trichuris ovis*

Gives, P. & Arece-García, J., 2011), in addition, cestodes can be observed such as *Moniezia spp.* (Bashtar et al., 2011) and trematodes such as *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum spp.* (Idris, A., Moors, E., Sohnrey, B., & Gauly, M., 2012; Rojo-Vázquez F., A., Meana, A., Valcárcel, F., & Martínez-Valladares, M., 2012). Due to their high prevalence and pathogenicity, GNI are the most economically important parasites in sheep and the determination of the factors affecting them is essential for diagnosis and research in epidemiology and anthelmintic resistance (Roeber, F., Jex A., R., & Gasser R., B., 2013).

For all the above reasons, the objective was to determine the influence of environmental factors on gastrointestinal parasitosis and evaluate immunological, hematological and productive indices during the first natural infection of hairy lambs at weaning under warm humid climate conditions in Mexico.

Methodological approach

Location

The study was carried out in three municipalities in the mountain range region of Tabasco state (Teapa, Tacotalpa and Jalapa). The municipalities are located at 17° 34' 00" N and 92° 58' 00" W; 17° 36' 48" N and 92° 47' 51" W; 17° 43' 24" N and 92° 48' 23" W, respectively. The climate of the region is warm humid with rainfall throughout the year. The average temperature is 25.6-27.3 °C and precipitation in the three municipalities ranged from 2 996 to 3 901 mm (García, 1988).

The analyses of the coproparasitoscopic samples were carried out at the Division Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) of the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) in the central municipality, in Tabasco, and blood samples were processed at the laboratory of the Unidad Regional Universitaria Sursureste (URUSSE) of the Universidad Autónoma Chapingo (UACH), located in the municipality of Teapa, Tabasco.

The study was carried out from September 2014 to July 2015. Six lambs of Pelibuey, Balckbelly and Katahdin breeds, approximately three months old, recently weaned, with average weight of 14.4 ± 3.3 kg, were acquired each month. Lambs were dewormed with Levamisole at commercial dosage (7.5 mg·kg⁻¹ live weight; LW) and stabled for fifteen days to ensure they were not infected with GIP at the time of grazing. Two lambs were allocated monthly in each of the production units in the three municipalities under study (Jalapa, Tacotalpa and Teapa). Lambs grazed for a month and then stabled for 30 days. After grazing, FEC and peripheral

(Craig B., H., Pilkington J., G., & Pemberton J., M. 2006; González-Garduño, R., Córdoba-Pérez, C., Torres-Hernández, G., Mendoza-de Gives, P. & Arece-García, J., 2011), además, se pueden presentar cestodos como *Moniezia spp.* (Bashtar et al., 2011) y trematodos como *Fasciola hepática* y *Paramphistomum spp.* (Idris, A., Moors, E., Sohnrey, B., & Gauly, M., 2012; Rojo-Vázquez F., A., Meana, A., Valcárcel, F., & Martínez-Valladares, M., 2012). Por la alta prevalencia y patogenicidad, los NGI son los parásitos de mayor importancia económica en los ovinos y la determinación de los factores que los afectan es esencial para diagnóstico e investigación en epidemiología y resistencia antihelmíntica (Roeber, F., Jex A., R., & Gasser R., B., 2013).

Por lo anterior, se propuso como objetivo determinar la influencia de factores ambientales en la parasitosis gastrointestinal y evaluar los índices inmunológicos, hematológicos y productivos durante la primera infección natural de corderos de pelo al destete en condiciones de clima cálido húmedo de México.

Enfoque metodológico

Localización

El estudio se desarrolló en tres municipios de la región Sierra del estado de Tabasco (Teapa, Tacotalpa y Jalapa). Los municipios se encuentran ubicados a 17° 34' 00" N y 92° 58' 00" W; 17° 36' 48" N y 92° 47' 51" W; 17° 43' 24" N y 92° 48' 23" W, respectivamente. El clima de la región es cálido húmedo con lluvias todo el año. La temperatura promedio es de 25.6-27.3 °C y la precipitación de los tres municipios estuvo en un rango de 2 996 a 3 901 mm (García, 1988).

Los análisis de las muestras coproparasitoscópicas se realizaron en la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) en el municipio del Centro, en el estado de Tabasco, y las muestras de sangre se procesaron en el laboratorio de la Unidad Regional Universitaria Sursureste (URUSSE) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), ubicado en el municipio de Teapa, Tabasco.

El estudio se desarrolló de septiembre de 2014 a julio de 2015. Cada mes se adquirieron seis corderos de raza Pelibuey, Balckbelly y Katahdin, de tres meses de edad aproximadamente, recién destetados, con peso promedio de 14.4 ± 3.3 kg. Los corderos se desparasitaron con Levamisol a la dosis comercial (7.5 mg·kg⁻¹ de peso vivo; PV) y se estabularon durante quince días para asegurar que no estuvieran infectados con PGI al momento de entrar al pastoreo. Dos corderos se asignaron mensualmente en cada una de las unidades de

hematological and immunological values were determined. Sampling was carried out before grazing (day -5), after grazing (day 30), after fifteen days (day 45) and at the end of the stabled period (day 60).

The seasons of the year were determined according to the climatological conditions of the region and previously defined in a study by Larios and Hernández (1992), which indicated three seasons for the study region: dry from February to May, rainy from June to September, and strong winds from October to January. Lamb weights were also recorded before grazing and at the end of the study.

Parasitology and hematology

The expulsion of GNI eggs was carried out using the McMaster technique, which is used to obtain an estimate of the number of GNI eggs per gram of faeces (EPG; Thienpont D., et al., 1986), with a sensitivity of 50 EPG (Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., & Scala, A., 2004).

Blood samples were collected in 5ml vacutainer tubes (Becton Dickinson, USA) to determine the agglomerated cell pack volume (ACV) using the micro-hematocrit technique (Benjamin, 1991). Serum protein concentration was measured with a refractometer and expressed in $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$. On the other hand, white blood cells were counted using a hemocytometer (Improved Neubauer, bright line, USA) and the differential leukocyte count was also performed with rapid hemocolorant (Hycel, Mexico Cat. 548), discriminating between neutrophils, basophils, eosinophils, lymphocytes and monocytes. Moreover, blood serum was stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for immunoglobulin analyses to be carried out later.

Determining IgA by indirect ELISA

To determine IgA levels in serum and saliva, an indirect ELISA was carried out using crude extract of adult nematodes of *H. contortus* and *T. colubriformis*, respectively (Alvarado-Alvarado et al., 2017). Optical density was determined using an ELISA plate reader at 450 nm wavelength. The final value was obtained by subtracting from each well the values of the wells with PBS, which represented the nonspecific binding of the conjugate (Andronicos, N., Hunt, P., & Windon, R., 2010). IgA activity was expressed as a percentage of the positive standard serum according to the formula given by Cardoso C., P., Silva B. F., Trinca L., A., & Amarante A., F. (2013).

The determination of IgA in saliva was performed according to the methodology described by Shaw R., J., Morris C., A., Wheeler M., Tate M., and Sutherland I.,

producción de los tres municipios en estudio (Jalapa, Tacotalpa y Teapa). Los corderos salieron a pastoreo durante un mes, y posteriormente se estabularon durante 30 días. Posterior al pastoreo se determinaron los CFH y los valores hematológicos e inmunológicos periféricos. Los muestreos se realizaron antes del pastoreo (día -5), al finalizar el pastoreo (día 30), a los quince días (día 45) y al final del periodo de estabulación (día 60).

Las épocas del año se determinaron de acuerdo a las condiciones climatológicas de la región y definidas con anterioridad en un estudio realizado por Larios y Hernández (1992) donde se indican tres épocas para la región de estudio: secas de febrero a mayo, lluvias de junio a septiembre y nortes de octubre a enero. Asimismo, se registró el peso de los corderos antes del pastoreo y al final del estudio.

Parasitología y hematología

La expulsión de huevos de NGI se realizó mediante la técnica de McMaster, la cual es usada para obtener una estimación del número de huevos de NGI por gramo de heces (HPG; Thienpont D., et al., 1986), con una sensibilidad de 50 HPG (Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., & Scala, A., 2004).

Se tomaron muestras de sangre en tubos vacutainer de 5ml (Becton Dickinson, USA), para determinar el volumen del paquete celular aglomerado (VCA) mediante la técnica de micro-hematocrito (Benjamin, 1991). La concentración de la proteína sérica se midió con un refractómetro y se expresó en $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$. Por otra parte, se realizó el conteo de los glóbulos blancos en un hemocitómetro (Improved Neubauer, bright line, USA) y también se realizó el recuento diferencial de leucocitos con hemocolorante rápido (Hycel, Mexico Cat. 548), discriminando entre neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos. Por una parte, el suero sanguíneo se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para los análisis de inmunoglobulinas que se realizaron posteriormente.

Determinación de IgA por ELISA indirecta

Para determinar los niveles de IgA en suero y saliva se realizó una ELISA indirecta utilizando extracto crudo de nematodos adultos de *H. contortus* y *T. colubriformis*, respectivamente (Alvarado-Alvarado et al., 2017). La densidad óptica se determinó en un lector de placa de ELISA a 450 nm de longitud de onda. El valor final se obtuvo restando a cada pozo los valores de los pozos con PBS, lo que representó la unión inespecífica del conjugado (Andronicos, N., Hunt, P., & Windon, R., 2010). La actividad de la IgA se expresó como porcentaje del suero estándar positivo de acuerdo con la

A. (2012). A., Wheeler M., Tate M., and Sutherland I., A. (2012); the antigen (Ag) was not filtered in sephadex and therefore it was called aqueous larval extract (ALE).

Statistical analysis

The data was analyzed using the SAS statistical package (SAS, 2004) where the fixed effects were the different factors studied and the random effects were the animals. The model used was the following:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \rho_j + \gamma_k + \zeta_l + \psi_m + \tau^*\zeta_{il} + \gamma^*\zeta_{kl} + \rho^*\zeta_{jl} + \psi^*\zeta_{lm} + \delta_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = Response variable (Observance of IgA, EPG, ACV).
 μ = Overall mean, τ_i = Fixed effect of animal gender. ρ_j = Effect of municipality. γ_k = Effect of the sampling month. ζ_l = Effect of the sampling period. ψ_m = Effect of breed. $\tau^*\zeta_{il}$ = Joint effect of gender per period. $\gamma^*\zeta_{kl}$ = Joint effect of month per period. $\rho^*\zeta_{jl}$ = Joint effect of municipality per period. $\psi^*\zeta_{lm}$ = Joint effect of breed per period. δ_k = Random effect of lamb. ε_{ijkl} = Residual error.

Results

Differences in parasitological and hematological variables with respect to municipalities, months, sampling dates and among the three breeds of sheep used are shown in Table 1.

Parasitological indices

The analysis of the study variables shows that all the main effects (municipality, month, period and breed) were determinant for the FEC. The maximum counts occurred 60 days after the beginning of grazing with an average close to 5000 EPG ($P < 0.01$). Lambs grazing in the municipality of Tacotalpa had the highest FEC (3109 EPG), while the Pelibuey breed had the highest FEC of nematodes (3431 EPG; Table 1).

The most serious infections with GNI occurred during the season of strong winds, which includes the months of October, November and December. This was reflected in the FEC recorded in November, December and January, when the maximum values were 7933, 7890 and 13983 EPG, respectively. While during grazing in the dry season (February to April) counts ranged from 2 300 to 2 600 EPG and increased in June to 4 100 EPG (May grazing).

Lambs of all breeds (Pelibuey, Blackbelly and Katahdin) had similar FEC 45 days after the start of grazing (30 days of grazing + 15 days of housing). However, at 60 days Pelibuey lambs had higher nematode egg excretion (Figure 1).

fórmula indicada por Cardoso C., P., Silva B. F., Trinca L., A., y Amarante A., F. (2013).

La determinación de la IgA en saliva se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Shaw R., J., Morris C. A., Wheeler M., Tate M., y Sutherland I., A. (2012), excepto que el antígeno (Ag) no se filtró en sephadex y por esta razón se le denominó extracto larval acuoso (ELAC).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS (SAS, 2004) donde los efectos fijos fueron los distintos factores estudiados y los efectos aleatorios fueron los animales. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \rho_j + \gamma_k + \zeta_l + \psi_m + \tau^*\zeta_{il} + \gamma^*\zeta_{kl} + \rho^*\zeta_{jl} + \psi^*\zeta_{lm} + \delta_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = Variable respuesta (Observancia de IgA, HPG, VCA).
 μ = Media general, τ_i = Efecto fijo del género del animal. ρ_j = Efecto del municipio. γ_k = Efecto del mes de muestreo. ζ_l = Efecto del periodo de muestreo. ψ_m = Efecto de la raza. $\tau^*\zeta_{il}$ = Efecto conjunto del género por el periodo. $\gamma^*\zeta_{kl}$ = Efecto conjunto de mes por el periodo. $\rho^*\zeta_{jl}$ = Efecto conjunto del municipio por el periodo. $\psi^*\zeta_{lm}$ = Efecto conjunto de la raza por el periodo. δ_k = Efecto aleatorio del cordero. ε_{ijkl} = Error residual.

Resultados

Las diferencias en las variables parasitológicas y hematológicas respecto a los municipios, meses, fechas de muestreo y entre las tres razas utilizadas se muestran en el Cuadro 1.

Índices parasitológicos

En el análisis de las variables de estudio se observó que todos los efectos principales (municipio, mes, periodo y raza) fueron determinantes en los CFH. Los máximos conteos ocurrieron a los 60 días posteriores de iniciado el pastoreo con un promedio cercano a los 5000 HPG ($P < 0.01$). Los corderos que pastorearon en el municipio de Tacotalpa mostraron el mayor CFH (3109 HPG). Mientras que en la raza Pelibuey se observaron los mayores CFH de nematodos (3431 HPG; Cuadro 1).

Las mayores infecciones con NGI ocurrieron durante la época de nortes, que considera los meses de octubre, noviembre y diciembre, esto se reflejó en los CFH registrados en noviembre, diciembre y enero, cuando se registraron los valores máximos que correspondieron a 7 933, 7 890 y 13 983 HPG, respectivamente. Mientras que durante el pastoreo en la época de secas (febrero

Table 1. Averages of simple effects of study variables for natural first-infection of hair sheep.**Cuadro 1. Promedios de los efectos simples de las variables de estudio de la primoinfección natural de ovinos de pelo.**

Variable	N	EPG / HPG	ACV (%) / VCA (%)	PP (g·dL ⁻¹)	Leukocytes / Leucocitos	Differential counting / Conteo diferencial		
						Neutrophils / Neutrófilos	EOS	Lymphocytes / Linfocitos
Municipality / Municipio								
		**	**	**	*	*	*	ns
Jalapa	51	1621 ^b	27.0 ^a	5.8 ^b	13386 ^{ab}	6668 ^a	214 ^b	6429 ^a
Tacotalpa	53	3109 ^a	26.1 ^b	6.2 ^a	14606 ^a	6641 ^a	396 ^a	7344 ^a
Teapa	53	2091 ^b	25.9 ^b	5.9 ^b	12196 ^b	5354 ^a	107 ^b	6496 ^a
Month / Mes								
		**	**	**	**	ns	*	**
January / Enero	7	6036 ^a	-	-	-	-	-	-
February / Febrero	14	989 ^d	27.6 ^b	6.1 ^b	14196 ^{abcd}	6072 ^a	307 ^{ab}	7289 ^{bc}
March / Marzo	11	1405 ^{bcd}	25.1 ^{bcd}	6.7 ^a	10889 ^{cd}	4653 ^a	207 ^b	5940 ^{cd}
April / Abril	25	1130 ^{cd}	26.8 ^{bc}	7.0 ^a	16256 ^{ab}	7835 ^a	515 ^a	7180 ^{bc}
May / Mayo	21	1529 ^{bcd}	27.7 ^b	6.2 ^b	14649 ^{abc}	5508 ^a	283 ^{ab}	8308 ^b
June / Junio	24	2031 ^{bcd}	31.1 ^a	6.0 ^b	12208 ^{bcd}	6141 ^a	72 ^b	5746 ^{cd}
July / Julio	9	2250 ^{bcd}	24.2 ^{cd}	5.9 ^{bc}	16625 ^a	5903 ^a	147 ^b	10344 ^a
October / Octubre	8	2919 ^{bcd}	22.1 ^d	5.1 ^{de}	10444 ^d	5452 ^a	-	4724 ^d
November / Noviembre	16	3619 ^b	25.8 ^{bc}	5.5 ^{cd}	13813 ^{abcd}	6585 ^a	-	7284 ^{bc}
December / Diciembre	22	3457 ^{bc}	22.0 ^d	4.8 ^e	10384 ^d	6032 ^a	86 ^b	4330 ^d
Days post-infection / Días post-infección								
		**	**	*	ns	ns	ns	*
0	48	41 ^d	30.7 ^a	6.4 ^a	14101 ^a	7227 ^a	113 ^a	6302 ^b
30	41	1738 ^c	25.2 ^b	6.0 ^b	12371 ^a	5432 ^a	294 ^a	6468 ^{ab}
45	31	3224 ^b	24.4 ^b	5.5 ^c	13346 ^a	6942 ^a	348 ^a	6627 ^{ab}
60	37	5001 ^a	23.9 ^b	5.8 ^{bc}	13688 ^a	5446 ^a	256 ^a	7660 ^a
Breed / Raza								
		*	*	ns	ns	ns	ns	ns
Blackbelly	79	1965 ^b	25.0 ^b	6.0 ^a	13601 ^a	6322 ^a	315 ^a	6745 ^a
Katahdin	39	1774 ^b	29.9 ^a	6.0 ^a	13615 ^a	5971 ^a	98 ^a	7304 ^a
Pelibuey	39	3431 ^a	25.3 ^b	5.8 ^a	12699 ^a	6219 ^a	276 ^a	6156 ^a
Standard deviation / Desviación estándar		2653	4.0	0.6	4963	3248	398	2468

N: number of observations. EOS: Eosinophils. EPG: Nematode eggs per gram of feces. ACV: Agglomerated cell volume. PP: Plasma protein. *: Statistically significant difference ($P < 0.05$). **: Highly significant statistical difference ($P < 0.01$). ns: Non significant statistical difference ($P > 0.05$).

N: número de observaciones. EOS: Eosinófilos. HPG: Huevos de nematodos por gramo de heces. VCA: Volumen celular aglomerado. PP: Proteína plasmática. *: Diferencia estadística significativa ($P < 0.05$). **: Diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.01$). ns: Diferencia estadística no significativa ($P > 0.05$).

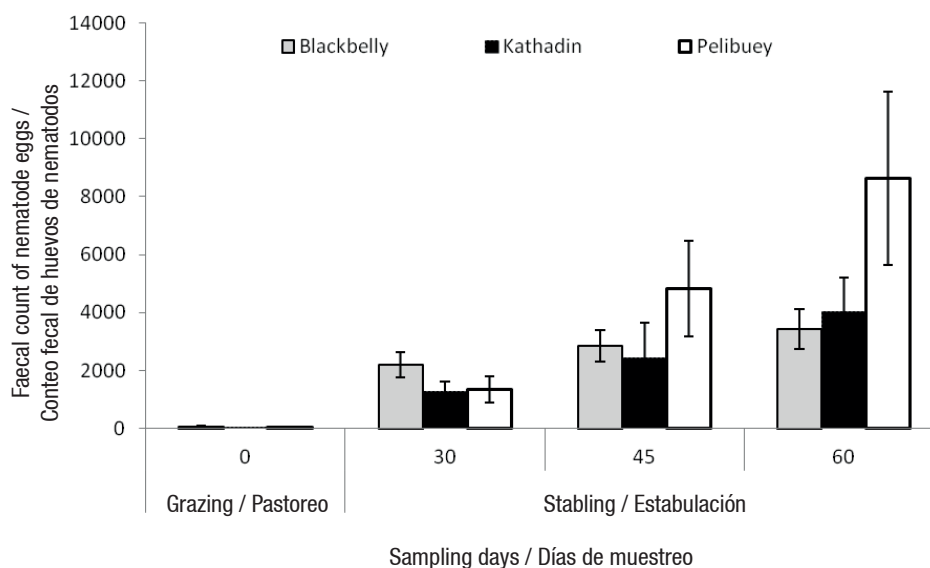


Figure 1. Faecal counts of nematode eggs per breed and sampling period. Grazing period of 30 days and stabling period of 30 days.

Figura 1. Conteo fecal de huevos de nematodos por raza y por periodo de muestreo. Periodo de pastoreo de 30 días y 30 días de estabulación.

The main nematode species observed were: *H. contortus*, *Cooperia curticei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum colombianum*, *Trichuris ovis*. The cestode *Moniezia expansa* and the trematode *Paramphistomum cervi* were also observed.

An increase in the percentage of *Strongyloides papillosus* was observed during the strong wind season, while a high amount of *H. contortus* was determined through larval counts during the dry and rainy seasons (Figure 2).

Weight gain

The daily weight gain of lambs was affected by the month and municipality in which they grazed ($P < 0.01$). The months with weight gain higher than 25 g per day were May, July and December. The highest weight gain was a maximum value of 60 g in May. The rest of the months showed no weight gain and in five months there was weight loss in lambs (Figure 3). The municipality of Jalapa recorded gains of 23 g per day (gd^{-1}), Teapa 3 gd^{-1} and Tacotalpa recorded losses of $-1.5 gd^{-1}$.

Hematological parameters

Both ACV and PP were affected by municipality, month and day of infection, as well as by breed. The highest ACV was obtained in the municipality of Jalapa ($27.0 \pm$

a abril) los conteos oscilaron entre 2 300 a 2 600 HPG y se incrementaron en junio a 4 100 HPG (pastoreo de mayo).

A los 45 días posteriores al inicio de pastoreo (30 días de pastoreo + 15 días de estabulación) los corderos de todas las razas (Pelibuey, Blackbelly y Katahdin) tuvieron similares CFH. Sin embargo, a los 60 días los corderos Pelibuey presentaron mayor excreción de huevos de nematodos (Figura 1).

Las principales especies de nematodos observadas fueron: *H. contortus*, *Cooperia curticei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum colombianum*, *Trichuris ovis*. También se observó el cestodo *Moniezia expansa* y el trematodo *Paramphistomum cervi*.

En la época de nortes se observó un incremento en el porcentaje de *Strongyloides papillosus*, mientras que una alta cantidad de *H. contortus* se determinó a través de los conteos larvales durante las secas y las lluvias (Figura 2).

Ganancia de peso

La ganancia diaria de peso de los corderos fue afectada por el mes y por el municipio en el que pastorearon ($P < 0.01$). Los meses con ganancia de peso superior a 25 g por día fueron mayo, julio y diciembre. La mayor

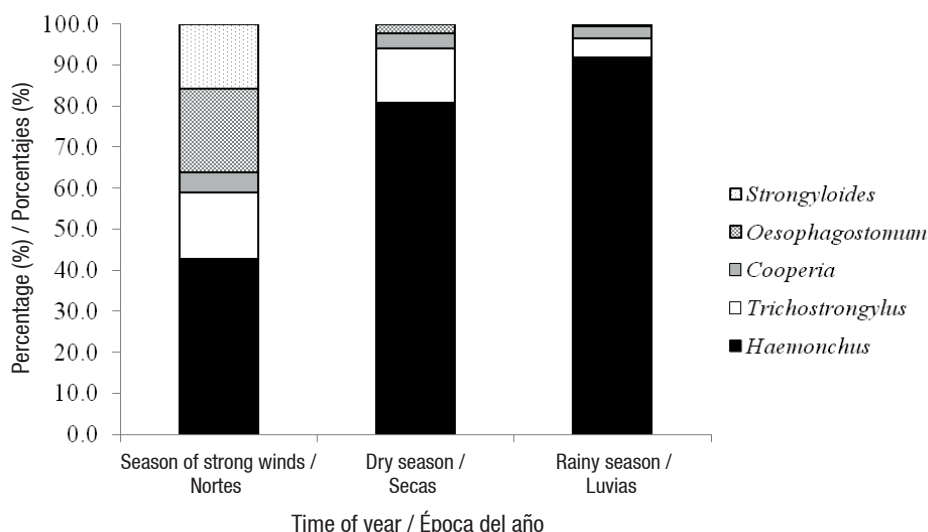


Figure 2. Larval counts of gastrointestinal nematodes from stool cultures of sheep during their first infection with gastrointestinal nematodes.

Figura 2. Conteos larvales de nematodos gastrointestinales a partir de coprocultivos de heces de ovinos durante su primera infección con nematodos gastrointestinales.

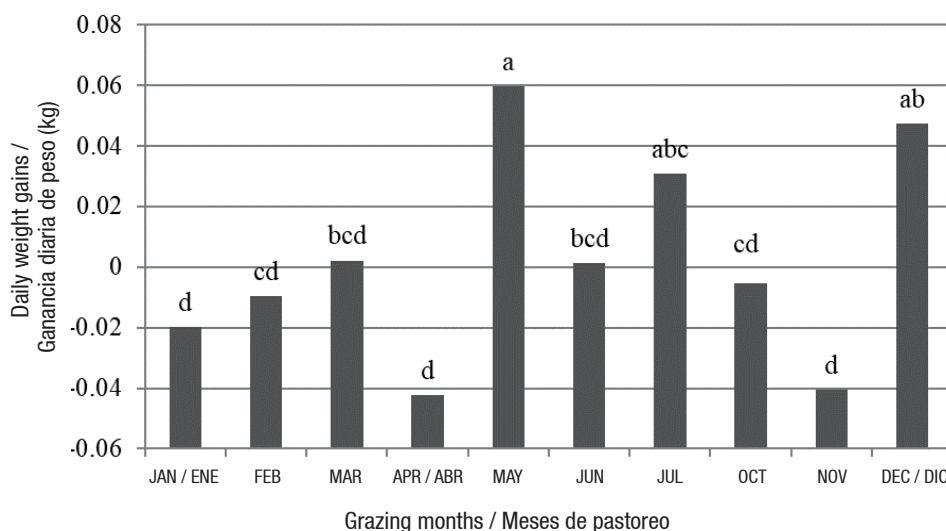


Figure 3. Weight changes per day in hair lambs during the first natural infection with gastrointestinal parasites during grazing.

Figura 3. Cambios de peso por día en corderos de pelo durante la primera infección natural con parásitos gastrointestinales en el pastoreo.

4.0 %), while the highest plasma protein concentration was for lambs in Tacotalpa ($6.2 \pm 0.6 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$). The greatest differences in ACV were observed from June to December and the lowest ACV and PP values were observed from October to December, which matched the highest FEC. The highest ACV and PP values were for the Kattahdin breed (29.9 and 6.0 ± 0.6 , respectively). While

ganancia de peso fue con un valor máximo de 60 g en mayo. En todos los demás meses no se observó ganancia de peso y en cinco meses se registró pérdida de peso en los corderos (Figura 3). En el municipio de Jalapa las ganancias fueron de 23 g por día (gd^{-1}), en el de Teapa 3 gd^{-1} y en el de Tacotalpa se observaron pérdidas por -1.5 gd^{-1} .

Pelibuey and Blackbelly breeds showed no differences ($P < 0.05$). On the day of infection, as expected, as time passed, the ACV values decreased due to the effect of parasitosis (Table 1).

The only interaction found was that of the month and day of infection (Figure 4), most of the months (October, November and December, March) recorded a reduction of ACV and PP. However, in May and June, PP remained stable and ACV was not reduced and even increased when the animals were stabled.

Differences in cell counts occurred between municipalities and between months, but no differences were observed between days of infection nor between breeds. Tacotalpa recorded the highest number of eosinophils (396 ± 398), which coincided with the highest number of leukocytes and the highest FEC. Differences were observed in the months without finding any particular trend. While lymphocytes showed a tendency to increase with differences between day 0 (6 302) and day 60 (660) after the beginning of infection during grazing (Table 1).

Immunoglobulin A (IgA)

IgA levels showed differences in some of the factors (municipality, month, day of infection) studied when using serum against the crude antigens of adult parasites of *H. contortus*, *T. colubriformis* and *C. curticiei*

Parámetros hematológicos

Tanto el VCA como la PP estuvieron afectados por el municipio, por el mes y el día de infección, así como por la raza. El mayor VCA se obtuvo en el municipio de Jalapa (27.0 ± 4.0 %), mientras que la mayor concentración de proteína plasmática ocurrió en los corderos de Tacotalpa (6.2 ± 0.6 g·dL⁻¹). Las mayores diferencias en el VCA se observaron entre junio y diciembre y los menores valores de VCA y de PP se observaron de octubre a diciembre, lo cual coincidió con los mayores CFH. En la raza Katahdin se observó el mayor valor de VCA y también de PP (29.9 y 6.0 ± 0.6 , respectivamente). Mientras que entre las razas Pelibuey y Blackbelly no se mostraron diferencias ($P < 0.05$). En el día de infección tal como se esperaba conforme transcurrió el tiempo los valores de VCA se redujeron por efecto de la parasitosis (Cuadro 1).

La única interacción encontrada fue la de mes y día de infección (Figura 4), en la mayoría de los meses (octubre, noviembre y diciembre, marzo) se observó una reducción del VCA y de la PP. Sin embargo, en mayo y junio, la PP se mantuvo estable y el VCA no se redujo e incluso se incrementó, cuando los animales estuvieron estabulados.

En los conteos celulares las diferencias ocurrieron entre municipios y entre meses, pero no se observaron diferencias entre los días de infección ni entre razas.

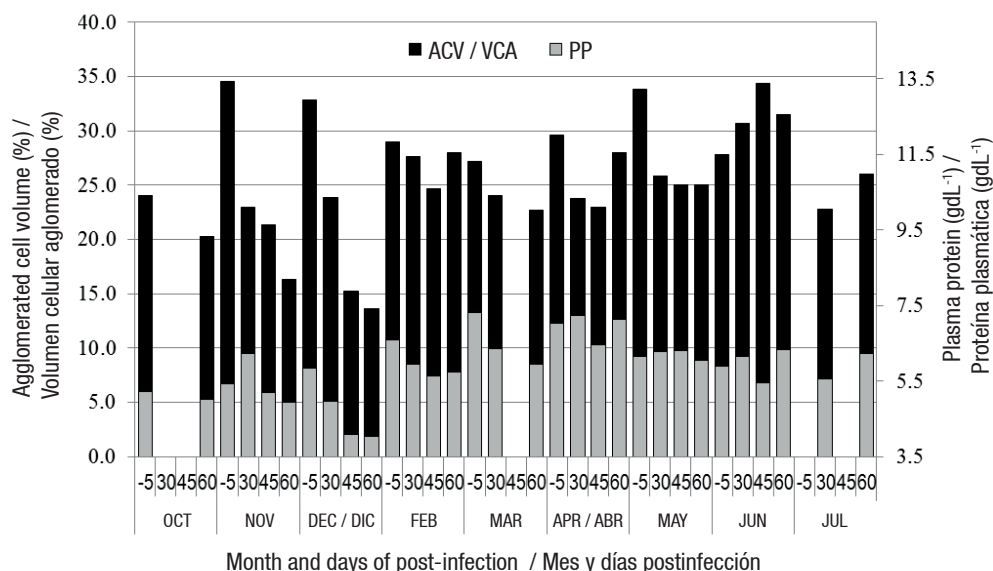


Figure 4. Effect of month-day of infection on agglomerated cell volume (ACV) and plasma protein (PP) for naturally infected hair sheep.

Figura 4. Efecto del mes día de infección en el volumen celular aglomerado (VCA) y proteína plasmática (PP) en ovinos de pelo infectados naturalmente.

Table 2. Averages compliance (AC) of immunoglobulin A (IgA) and percentage of response in relation to the positive standard with four gastrointestinal nematode antigens.**Cuadro 2. Promedios de observancia (OD) de la inmunoglobulina A (IgA) y porcentaje de respuesta respecto al estándar positivo, con cuatro antígenos de nematodos gastrointestinales.**

Variable	N	<i>H. contortus</i>		<i>T. colubriformis</i>		<i>C. curticiei</i>		Larval extract / Extracto larval	
		AC / OD	%	AC / OD	%	AC / OD	%	AC / OD	%
Municipality/ Municipio									
		**		**		*		ns	
Jalapa	41	0.054 ^a	2.0	0.061 ^a	2.8	0.034 ^a	1.5	0.065	2.1
Tacotalpa	46	0.077 ^a	2.9	0.039 ^{ab}	1.8	0.043 ^a	1.9	0.081	2.6
Teapa	53	0.023 ^b	0.8	0.015 ^b	0.7	0.012 ^b	0.5	0.099	3.2
Month / Mes									
		**		**		ns		ns	
December / Diciembre	17	0.070 ^{ab}	2.6	0.024 ^b	1.1	0.034	1.5	0.018	0.6
January / Enero	8	0.035 ^{bc}	1.3	0.016 ^b	0.7	0.027	1.2	0.041	1.3
February / Febrero	14	0.075 ^{ab}	2.8	0.055 ^{ab}	2.5	0.041	1.9	0.128	4.1
March / Marzo	8	0.068 ^{ab}	2.5	0.015 ^b	0.7	0.014	0.6	0.162	5.2
April / Abril	16	0.014 ^{bc}	0.5	0.041 ^{ab}	1.9	0.028	1.3	0.217	7.0
May / Mayo	21	0.000 ^c	0.0	0.066 ^{ab}	3.0	0.043	2.0	0.092	3.0
June / Junio	24	0.021 ^{bc}	0.8	0.012 ^b	0.6	0.007	0.3	0.058	1.9
July / Julio	9	0.107 ^a	4.0	0.086 ^a	3.9	0.007	0.3	0.080	2.6
October / Octubre	8	0.055 ^{abc}	2.0	0.014 ^b	0.6	0.024	1.1	0.025	0.8
November / Noviembre	15	0.119 ^a	4.4	0.032 ^{ab}	1.5	0.050	2.3	0.019	0.6
Period (days pre- and post-infection) / Periodo (días pre y postinfección).									
		*		ns		ns		ns	
-5	43	0.004 ^c	0.1	0.021	1.0	0.017	0.8	0.092	3.0
30	27	0.084 ^a	3.1	0.036	1.6	0.032	1.5	0.059	1.9
45	23	0.089 ^a	3.3	0.040	1.8	0.037	1.7	0.087	2.8
60	37	0.046 ^b	1.7	0.054	2.4	0.034	1.5	0.096	3.1
Breed / Raza									
		ns		ns		ns		ns	
Blackbelly	75	0.045	1.7	0.045	2.1	0.039	1.8	0.115	3.7
Katahdin	39	0.037	1.4	0.028	1.3	0.007	0.3	0.059	1.9
Pelibuey	26	0.081	3.0	0.024	1.1	0.030	1.4	0.027	0.9
Standard deviation / Desviación estándar		0.073	2.7	0.061	2.8	0.039	1.8	0.113	3.6

N: Number of observations.

N: Número de observaciones.

($P < 0.01$), on the other hand, the response in saliva did not show differences ($P > 0.05$), in all factors, when using the larval extract antigen (ALE). Neither were differences observed among the three breeds of sheep used in both serum and saliva with all the antigens used (Table 2).

Of the interactions studied, month and days of post-infection (-5, 30, 45 and 60) were significant for *H. contortus* and *C. curticei* antigens, while for the interaction of the municipality with days of post-infection, all adult nematode antigens (*H. contortus*, *T. colubriformis* and *C. curticei*) were significant ($P < 0.01$). With *H. contortus* antigen, IgA levels were higher at the end of grazing (30 days) and subsequently during the stabling stage the levels were reduced until day 60 (Figure 5a). However, in Jalapa the response was different for *T. colubriformis*, whose IgA value increased gradually until 60 days after the beginning of the experiment (Figure 5b).

Correlations

The most important correlations were between EPG and ACV, as well as EPG with PP. These correlations were negative and increased as the infection progressed. The highest correlation values were observed 60 days after the beginning of the infection. The correlation between ACV and PP was also high, but positive (Table 3). In cell counts the highest correlations were between leukocytes and neutrophils and leukocytes with lymphocytes. While between eosinophils and neutrophils there were positive but few correlations. On the other hand, the only correlations in humoral immunity were between IgA with the crude antigens of the three species of nematodes used and only at day 30 there was a positive correlation in the larval antigens using saliva.

Discussion

The study of factors during the first parasitic infection of sheep is important to determine a variable indicating resistance to gastrointestinal nematodes. However, it was found that lambs do not possess sufficient immunological defenses to avoid parasitosis, therefore with this study it was possible to evaluate the impact of GNI on hematological and productive indexes during the first infection.

Among the factors studied, climate conditions influenced parasitosis, and differences in FEC were observed in lambs throughout the year, this was associated with fluctuations in GNI larval populations at the sites of infection, which are strongly affected by humidity for development and also for transmission from feces to

En Tacotalpa se observó el mayor número de eosinófilos (396 ± 398) lo cual coincidió con el mayor número de leucocitos y con el mayor CFH. En los meses se observaron diferencias sin encontrarse alguna tendencia en particular. Mientras que los linfocitos mostraron una tendencia a incrementarse con diferencias entre el día 0 (6 302) y el día 60 (660) de iniciada la infección en pastoreo (Cuadro 1).

Inmunoglobulina A (IgA)

Los niveles de IgA mostraron diferencias en algunos de los factores estudiados (municipio, mes, día de infección) al usar suero contra los antígenos crudos de parásitos adultos de *H. contortus*, *T. colubriformis* y *C. curticei* ($P < 0.01$), por otra parte, la respuesta en saliva no mostró diferencias ($P > 0.05$), en todos los factores, al utilizar el antígeno de extracto larval (ELAC). Tampoco se observaron diferencias entre las tres razas utilizadas tanto en suero como en saliva con todos los antígenos usados (Cuadro 2).

De las interacciones estudiadas, el mes y los días postinfección (-5, 30, 45 y 60) fueron significativas para los antígenos de *H. contortus* y *C. curticei*, mientras que en la interacción del municipio con los días post-infección todos los antígenos de nematodos adultos (*H. contortus*, *T. colubriformis* y *C. curticei*) fueron significativos ($P < 0.01$). Con el antígeno de *H. contortus* los niveles de IgA fueron superiores al terminar el pastoreo (30 días) y posteriormente durante la etapa de estabulación se redujeron hasta el día 60 (Figura 5a). Sin embargo, en Jalapa la respuesta fue diferente para *T. colubriformis*, cuyo valor de IgA se incrementó paulatinamente hasta los 60 días después de iniciado el experimento (Figura 5b).

Correlaciones

Las correlaciones más importantes fueron entre el HPG y el VCA, así como el HPG con la PP. Estas correlaciones fueron negativas y se incrementaron conforme transcurrió la infección. Los mayores valores de correlación se observaron a los 60 días de iniciada la infección. También la correlación entre VCA y PP fue alta, pero en este caso positiva (Cuadro 3). En los conteos celulares las correlaciones más grandes fueron entre los leucocitos y los neutrófilos y leucocitos con los linfocitos. Mientras que entre eosinófilos y neutrófilos hubieron correlaciones positivas pero pequeñas. Por otra parte, las únicas correlaciones en la inmunidad humoral fueron entre la IgA con los antígenos crudos de las tres especies de nematodos utilizadas y solo al día 30 hubo correlación positiva en los antígenos larvales utilizando saliva.

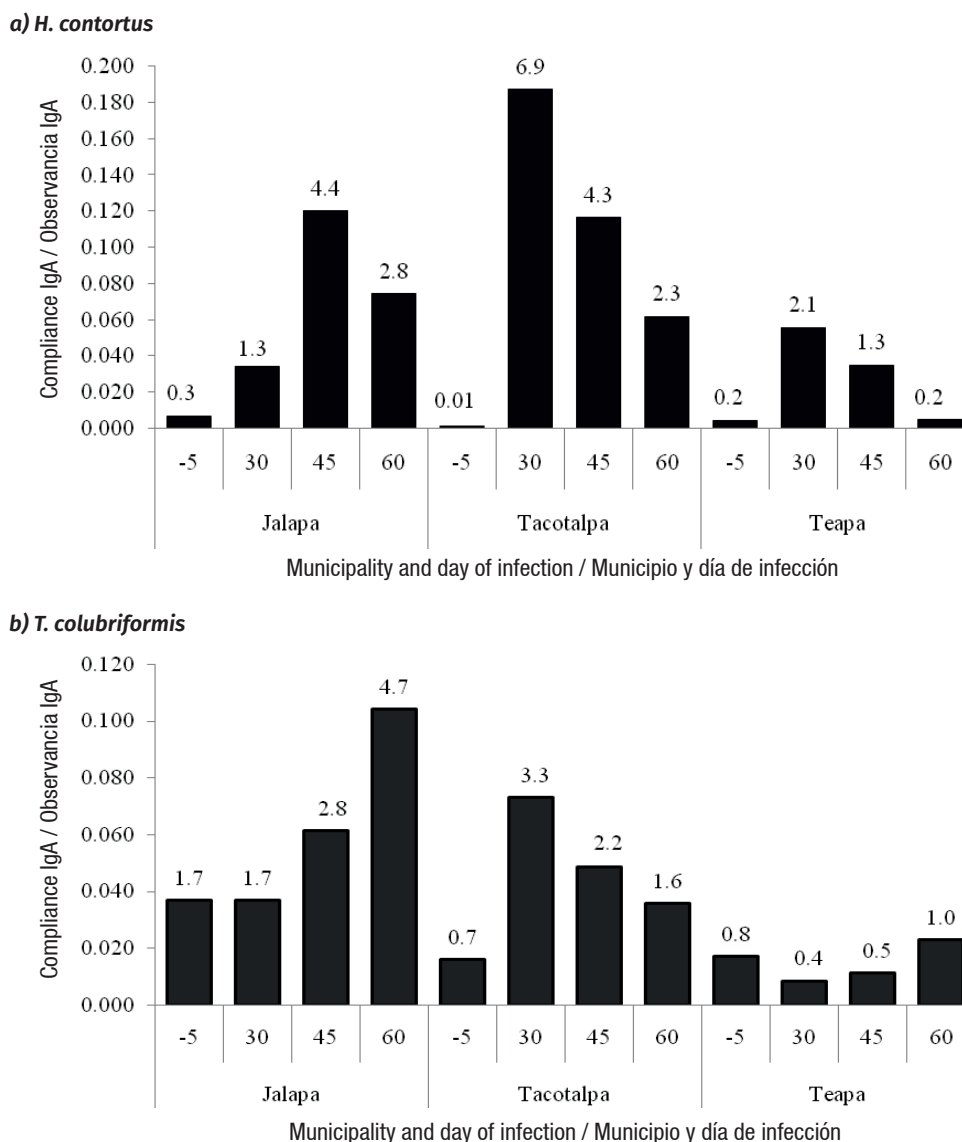


Figure 5. Compliance (AC) and value in relation to a positive standard (%) of serum IgA against a crude antigen of adults of a) *H. contortus* and b) *T. colubriformis*, for lambs naturally infected during grazing. Values in the column are percentages with respect to the standard.

Figura 5. Observancia (OD) y valor respecto a un estándar positivo (%) de la IgA en suero contra un antígeno crudo de adultos de a) *H. contortus* y b) *T. colubriformis*, en corderos infectados naturalmente en pastoreo. Valores en la columna son porcentajes respecto al estándar

grasses and finally to the host. Precipitation was one of the main limiting factors. Other studies have also highlighted the importance of moisture and concluded that, the rainy season allows a considerable increase in FEC (Sissay M., M., Uggla A., & Waller P., J., 2007), but fluctuations of different species also occur, which are affected by environmental conditions (Nwosu C., O., Madu P., P., & Richards W., S., 2007). Together, these factors create seasonal patterns of infection, as well as variation in the populations of different nematode species (Morgan & Van Dijk, 2012).

Discusión

El estudio de los factores durante la primera infección parasitaria de los ovinos es de gran relevancia para determinar alguna variable que indique resistencia a los nematodos gastrointestinales. Sin embargo, se encontró que los corderos no poseen las defensas inmunológicas suficientes para evitar la parasitosis, por lo que con este estudio se pudo evaluar el impacto de los NGI en los índices hematológicos y productivos durante la primera infección.

Table 3. Correlations between some study variables in hair sheep before and after natural infection with gastrointestinal nematodes under warm climate conditions.**Cuadro 3. Correlaciones entre algunas variables de estudio en ovinos de pelo antes y después de la infección natural con nematodos gastrointestinales en condiciones de clima cálido.**

Variables	Day 0 / Día 0	Day 30 / Día 30	Day 45 / Día 45	Day 60 / Día 60
EPG-ACV	-0.21 ^{ns}	-0.43**	-0.41*	-0.60**
EPG-ProtPlas	0.37*	-0.12 ^{ns}	-0.57**	-0.61**
ACV-ProtPlas	-0.26 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.46*	0.83**
Leukocytes-neutrophils / Leucocitos-neutrófilos	0.89**	0.84**	0.90**	0.72**
Leukocytes-Eosinophils / Leucocitos-Eosinófilos	0.74**	0.47**	0.37 ^{ns}	0.37*
Leukocytes-Lymphocytes / Leucocitos-Linfocitos	0.73**	0.78**	0.57**	0.87**
Neutrophils-Eosinophils / Neutrófilos-Eosinófilos	0.57**	0.30*	0.42*	0.42**
HcA-TcA (IgA)		0.85**	0.94**	0.47**
HcA-CcA (IgA)		0.88**	0.90**	0.67**
HcA-TcKSal(IgA)		0.63**	0.12 ^{ns}	0.0 ^{ns}

The highest number of egg counts was observed 60 days after the beginning of the infection, because during the month of stabling, the nematodes developed to adults and, therefore, the correlations of eggs and total adult parasites had the highest values (Data not shown). This agrees with that indicated in a previous study in the area, in which the highest correlation between fecal egg counts and the number of adult parasites was at 45 days after infection (González-Garduño, R., et al., 2011). Especially when *H. contortus* was abundant, correlation coefficients were high (Gaully M., & Erhardt G., 2001). Thus, the fecal counts obtained during stabling represented the infection of the previous month of grazing.

FEC were negatively correlated with ACV, animals with higher infection had lower ACV, this has been reported in other studies, in which *H. contortus* was the most prevalent nematode due to its hematophagous habits (Esteban-Demetrio et al., 2013). Throughout the year, differences in ACV were also negatively correlated with FEC. However, in July the ACV increased, which could be due to the quality of the grass, which improves due to the increase of humidity, so this behavior could be associated with animal nutrition, such as observed in weight gains recorded in this month.

Another source of variation that affected the ACV was the breed. Pelibuey lambs had lower ACV than the other breeds and in the same sense, fecal counts increased in this one, which would suggest that this breed is more susceptible than Blackbelly and Kathadin based on this variable and considering that *H.*

Dentro de los factores estudiados, las condiciones climáticas prevalecientes influyeron en la parasitosis, y se observaron diferencias en los CFH en los corderos a través del año, lo cual se asoció a las fluctuaciones en las poblaciones de larvas de los NGI en los sitios de infección, las cuales se ven fuertemente afectadas por la humedad para el desarrollo y también para la transmisión de las heces a los pastos y finalmente al hospedero. La precipitación fue uno de los principales factores limitantes. En otros estudios también se ha destacado la importancia de la humedad y se ha concluido que, la época de lluvias permite un incremento considerable de los CFH (Sissay M., M., Uggla A., & Waller P., J., 2007), pero también ocurren fluctuaciones de las diferentes especies, que se ven afectadas por las condiciones ambientales (Nwosu C., O., Madu P., P., & Richards W., S., 2007). En conjunto, estos factores originan los patrones estacionales de la infección, así como la variación de las poblaciones de las diferentes especies de nematodos (Morgan & Van Dijk, 2012).

El mayor número de coteo de huevos se observó a los 60 días de iniciada la infección, dado que, durante el mes de estabulación, los nematodos se desarrollaron hasta adultos y, por lo tanto, las correlaciones de huevos y el total de parásitos adultos tuvieron los mayores valores (Datos no presentados). Esto coincide con lo indicado en un estudio previo en la zona, en la que la mayor correlación entre los conteos fecales de huevos y el número de parásitos adultos fue a los 45 días después de la infección (González-Garduño, R., et al., 2011). Especialmente cuando abundó *H. contortus* los coeficientes de correlación fueron altos (Gaully M.,

contortus is the main nematode in the study area. However, the number of animals is not enough to conclude; therefore further studies are required to test the effect of infection on ACV among the three main sheep breeds in the tropics. Other studies indicate that hair breeds of sheep have more resistance than wool breeds (Notter D., R., Andrew S., A., & Zajac A., M., 2003, Vanimisetti H., B., Andrew S., L., Zajac A., M., & Notter D., R., 2004), but among hair breeds enough information has to be generated to know which of them have more resistance (Bowdridge S., MacKinnon K., McCann J. C., Zajac A. M., & Notter D., R., 2013).

With the peripheral immunological variables, it was not possible to determine the resistance of lambs against GNI during the first infection. Blood cell counts showed no differences before and after the infection, as well as between breeds. This behavior is due to the fact that *H. contortus* infection increases T CD4+ cells in the abomasal lymph nodes and increased numbers of eosinophils, $\gamma\delta$ + cells and B cells are also observed in the abomasal tissue, which corresponds to a local rather than a systemic response (Balic A., Bowles V., M., & Meeusen E. N., T., 2000).

Other studies have observed differences in neutrophil numbers between breeds in favor of hair breeds over wool breeds (Bowdridge et al., 2013). However, in this study, no differences were observed between the hair breeds used (Pelibuey, Blackbelly and Katahdin). The determination of neutrophils is important because it indicates inflammatory processes in the development of protective immunity. Previous studies indicated that at five days after infection high neutrophil counts occur and together with macrophages allow preventing larva establishment, so their action may also be local (Bowdridge et al., 2013). In this case, it was not possible to distinguish any effect of study variables (municipality, month, breed, day of infection) on the number of neutrophils.

The low peripheral eosinophil counts observed in lambs throughout the study were probably due to two situations. First, the animal was not immunologically mature or these cells were exerting their action locally (Henderson & Stear, 2006). As indicated, mast cells and eosinophils are cells typically related to the immune response that involves the rejection of parasites. The effectiveness of the attack process is dependent on the activation state of eosinophils, which can increase their activity by repeated stimulation with interleukin 5 (IL-5). Eosinophils are recruited in abomasal tissue during infection and with increased speed during re-infection and at specific sites around infecting larvae (Meeusen E., N., Balic A., & Bowles, V., 2005).

& Erhardt G., 2001). Así los conteos fecales obtenidos durante la estabulación, representaron la infección del mes previo de pastoreo.

Los CFH estuvieron correlacionados de manera negativa con el VCA, los animales con la mayor infección presentaron menor VCA, esto se ha indicado en otros estudios, en los que el *H. contortus* fue el nematodo de mayor prevalencia debido a sus hábitos hematófagos (Esteban-Demetrio et al., 2013). A través del año, las diferencias en el VCA también se correlacionaron negativamente con los CFH. Sin embargo, se observó que en julio se incrementó el VCA, lo cual pudo deberse a la calidad del pasto, la cual mejora por el aumento de humedad, por lo que quizá este comportamiento está asociado a la nutrición de los animales, tal como se observó en las ganancias de peso registradas en este mes.

Otra fuente de variación que afectó el VCA fue la raza. Los corderos Pelibuey tuvieron menor VCA que las otras razas y en el mismo sentido los conteos fecales se incrementaron en esta, lo que haría suponer que esta raza es más susceptible que Blackbelly y Kathadin con base en esta variable y considerando que *H. contortus* es el principal nematodo en la zona de estudio. Sin embargo, el número de animales no es suficiente para concluir al respecto y se requiere de otros estudios para comprobar el efecto de la infección en el VCA entre las tres principales razas de ovinos en el trópico. En otros estudios se indica que las razas de pelo tienen más resistencia que las de lana (Notter D., R., Andrew S., A., & Zajac A., M., 2003, Vanimisetti H., B., Andrew S., L., Zajac A., M., & Notter D., R., 2004), pero entre las razas de pelo aún se debe generar información suficiente para saber cuál de ellas posee más resistencia (Bowdridge S., MacKinnon K., McCann J. C., Zajac A. M., & Notter D., R., 2013).

Con las variables inmunológicas periféricas no fue posible determinar la resistencia de los corderos contra los NGI durante la primera infección. Los conteos celulares en sangre no mostraron diferencias antes y después de la infección, así como tampoco entre razas. Posiblemente, este comportamiento se debe a que la infección de *H. contortus* incrementa las células T CD4+ en los nódulos linfáticos abomasaes y también se observan mayores cantidades de eosinófilos, células $\gamma\delta$ + y células B que se localizan en el tejido abomasal, la cual corresponde a una respuesta de tipo local más que sistémica (Balic A., Bowles V., M., & Meeusen E. N., T., 2000).

En otros estudios se han observado diferencias en el número de neutrófilos entre razas a favor de las razas de pelo respecto a las de lana (Bowdridge et al., 2013).

The highest humoral immune response against the three species of GNI used as antigens occurred in lambs from Jalapa and Tacotalpa. Lambs from both municipalities showed similar AC between them and with statistical differences ($P < 0.01$) with respect to the value obtained in the animals from Teapa. Despite the statistical differences of IgA in the study factors during the first infection of lambs, AC values ranged from 0 to 4.4 % compared to the positive standards used, indicating that the immunity of the lambs was insufficient to reduce GNI parasitosis by itself and, therefore, high FEC were observed.

The differences of IgA levels observed after infection followed a similar pattern to the FEC, since as the days passed, the highest fecal counts were obtained after 45 days after the beginning of grazing. IgA values also followed the same behavior and the highest values were obtained at day 45. However, by the day 60 IgA levels decreased again. IgA values did not become important in the control of GNI. Also, between months, differences were observed with the antigens of the two main nematode species found in the area. This is generally attributed to the fact that the highest prevalence of species was precisely *H. contortus* and *T. colubriformis*, and their seasonal differences played an important role in determining infection patterns (Morgan & Van Dijk, 2012).

Similarly, to that observed in this study, differences between hair and wool breeds with a crude nematode antigen showed no differences (Bowdridge et al., 2013). Scottish Blackface lambs infected with 50 000 L3 of *Teladorsagia circumcincta*, had an IgA peak 8 to 10 days after infection and declined subsequently (Henderson & Stear, 2006). This reduction in IgA levels was also observed in the present study and occurred subsequently to the lambs' exit from grazing, which was at the time they stopped reinfesting and stabled. However, IgA levels were not recorded on a frequent basis so the reduction in IgA levels could not be accurately determined and it was only determined that at fifteen days the levels were lower.

In this case, it was observed that in Tacotalpa, with the highest fecal counts of nematode eggs, the immune response was the highest (6.9% compared to the positive standards) 30 days after the beginning of grazing, and was precisely when the animals returned from grazing to stabling. This indicates that the higher the level of infection, the higher immune response. However, the levels of response do not allow the animals to excrete the nematodes and damages were very important since about 25 % of the lambs died during grazing.

Sin embargo, en este estudio no se observaron diferencias entre las razas de pelo utilizadas (Pelibuey, Backbelly y Katahdin). La determinación de neutrófilos es importante porque indica procesos inflamatorios en el desarrollo de inmunidad protectora. Estudios previos indicaron que a los cinco días después de la infección ocurren altos conteos de neutrófilos y junto con los macrófagos permiten prevenir el establecimiento de las larvas, por lo que su acción también puede ser local (Bowdridge et al., 2013). En el caso de este trabajo no fue posible distinguir algún efecto de variables de estudio (municipio, mes, raza, día de infección) sobre el número de neutrófilos.

Los bajos recuentos de eosinófilos periféricos observados en los corderos durante todo el estudio posiblemente se debieron a dos situaciones, la primera, que el animal no se encontraba inmunológicamente maduro o bien a que estas células se encontraban ejerciendo su acción de manera local (Henderson & Stear, 2006). Ya que tal como se ha indicado los mastocitos y eosinófilos son células que se encuentran relacionadas típicamente con la respuesta inmune que implica el rechazo de los parásitos. La efectividad del proceso de ataque es dependiente del estado de activación de los eosinófilos, los cuales pueden incrementar su actividad por estimulación repetida con interleucina 5 (IL-5). Los eosinófilos son reclutados en el tejido abomasal durante la infección y con mayor velocidad en las reinfecciones y en los sitios específicos alrededor de las larvas infectantes (Meeusen E., N., Balic A., & Bowles, V., 2005).

La mayor respuesta inmune humoral contra las tres especies de NGI usadas como antígenos ocurrió en los corderos provenientes de Jalapa y Tacotalpa. Los corderos de ambos municipios mostraron similar OD entre ellos y con diferencias estadísticas ($P < 0.01$) respecto al valor obtenido en los animales de Teapa. A pesar de encontrarse diferencias estadísticas de la IgA en los factores de estudio durante la primera infección de los corderos, los valores de OD oscilaron entre 0 a 4.4 % respecto a los estándares positivos utilizados, lo que indica que la inmunidad de los corderos fue insuficiente para reducir por sí mismo la parasitosis de NGI y, por lo tanto, se observaron altos CFH.

Las diferencias en el nivel de IgA que se observaron posterior a la infección siguieron un patrón similar a los CFH, ya que conforme transcurrieron los días, se obtuvieron los mayores conteos fecales después de los 45 días de iniciado el pastoreo. También los valores de IgA siguieron este mismo comportamiento y se obtuvieron los mayores valores al día 45. Sin embargo, para el día 60 los niveles de IgA se redujeron nueva-

In sheep IgA drifts from the gastrointestinal tract, mainly produced by plasma cells in the lamina propria, there it binds to parasites or parasite secretions and a part is transported through the lymphatic system into the blood, so plasma IgA activity is reduced when the number of fourth stage larvae increases and it increases with increased mucus activity (Henderson & Stear, 2006).

Conclusions

It is concluded that the environmental conditions in the mountain range region of Tabasco state originate a higher prevalence of gastrointestinal nematodes during the period of strong winds (October to January) with greater consequences for the sheep since the hematic values are reduced due to the presence of *Haemonchus contortus*. However, during the first infection of lambs, no cellular immunological differences were observed, and the number of eosinophils was similar before and after infection and between breeds. However, differences in months and municipality were observed.

IgA levels showed differences among the factors studied, but the specific immune response compared to the positive standard was less than 6.9% and was not enough to reduce the effects of parasitism with gastrointestinal nematodes.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Centro de Capacitación y Reproducción de Especies Menores (CE-CAREM) of the Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Forestal y Pesca (SEDAFOP), Gobierno del Estado de Tabasco, and the private ranches: Santa Martha and San Francisco for the facilities provided for the development of this study.

End of English version

References / Referencias

- Alvarado-Alvarado, A., González-Garduño, R., Zaragoza-Vera, M., Zaragoza-Vera, C., Arjona-Jiménez, G., Navarro Martínez, F. (2017). Parámetros inmunológicos en ovinos para abasto contra nematodos gastrointestinales en Tabasco, México. *Agroproductividad* 10(2): 47-52.
- 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 for Parasitology* 40(4): 417-429.

mente. Los valores de IgA no llegaron a ser importantes en el control de los NGI. También, entre meses, se observaron diferencias con los antígenos, de las dos principales especies de nematodos, encontrados en la zona. Lo cual se atribuye de manera general a que la mayor prevalencia de especies era precisamente *H. contortus* y *T. colubriformis*, y sus diferencias estacionales tuvieron un papel importante en la determinación de los patrones de infección (Morgan & Van Dijk, 2012).

De igual manera, a lo observado en este estudio, las diferencias entre razas de pelo y de lana con un antígeno crudo de nematodos no mostraron diferencias (Bowdridge et al., 2013). En corderos Scottish Blackface infectados con 50 000 L3 de *Teladorsagia circumcincta*, el pico de la IgA se observó de los 8 a los 10 días después de la infección y declinó subsecuentemente (Henderson & Stear, 2006). Esta reducción en los niveles de IgA también se observó en el presente estudio y ocurrió posteriormente a la salida de los corderos del pastoreo, que fue en el momento en que se dejaron de reinfectar y se estabularon. Sin embargo, no se registraron de manera frecuente los niveles de IgA por lo que no se pudo determinar con exactitud la reducción de los niveles de IgA y solo se determinó que a los quince días los niveles fueron inferiores.

En este caso se pudo observar que en Tacotalpa donde hubo los mayores conteos fecales de huevos de nematodos la respuesta inmune fue la mayor (6.9 % respecto a los estándares positivos) a los 30 días de iniciado el pastoreo y fue justamente cuando los animales regresaron de pastoreo a estabulación. Lo que indica que a mayor nivel de infección la respuesta inmune se incrementa. Sin embargo, los niveles de respuesta no permiten que los animales logren expulsar a los nematodos y los daños fueron muy importantes ya que cerca del 25 % de los corderos murió durante el pastoreo.

En los ovinos la IgA deriva del tracto gastrointestinal, específicamente es producido por las células del plasma en la lámina propia, ahí se unen a los parásitos o a las secreciones de los parásitos y parte es transportada a través del sistema linfático a la sangre, por lo que la actividad de la IgA en plasma se reduce cuando se incrementa el número de larvas en cuarto estadio y se incrementa con el aumento de la actividad del mucus (Henderson & Stear, 2006).

Conclusiones

Se concluye que las condiciones ambientales en la región de la Sierra del estado de Tabasco originan una mayor prevalencia de nematodos gastrointestinales

- Balic A., Bowles, V. M., & Meeusen E., N. T., (2000). Cellular profiles in the abomasal mucosa and lymph node during primary infection with *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 75(1): 109-120.
- Bashtar A., R., Hassanein M., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K., Hassan, S., Al-Ghamdi, A. (2011). Studies on monieziasis of sheep I. Prevalence and antihelminthic effects of some plant extracts, a light and electron microscopic study. *Parasitology research*, 108(1), 177-186.
- Benjamin M., M. (1991). Manual de patología clínica en veterinaria. Ed. Limusa, México. 421 pp.
- Bowdridge, S., MacKinnon, K., McCann, J. C., Zajac A., M., & Notter D., R. (2013). Hair-type sheep generate an accelerated and longer-lived humoral immune response to *Haemonchus contortus* infection. *Veterinary Parasitology* 196(1): 172-178.
- 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(1): 183-191.
- Craig B., H., Pilkington J., G., & Pemberton J., M. (2006). Gastrointestinal nematode species burdens and host mortality in a feral sheep population. *Parasitology* 133(4): 485-496.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., & Scala, A. (2004). The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Veterinary Parasitology* 123(1): 121-131.
- Esteban-Andrés, D., González-Garduño, R., Garduza-Arias, G., Ojeda-Robertos, N. F., Reyes-Montes, F., & Gutiérrez-Cruz, S., (2013). Desarrollo de resistencia a nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo desafiados con diferentes niveles de infección. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* 60(3): 169-181.
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México. 246pp.
- Gauly M, & Erhardt G. (2001). Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhön sheep following natural infection, *Veterinary Parasitology* 102(3): 253-259.
- González-Garduño, R., Mendoza-de Gives, P., & Torres-Hernández, G. (2013). Variability in the fecal egg count and the parasitic burden of hair sheep after grazing in nematode infected paddocks. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(4): 469-475.
- González-Garduño, R., Cordóva-Pérez, C., Torres-Hernández, G., Mendoza-de Gives, P., & Arece-García, J. (2011). Prevalence of gastrointestinal parasites in slaughtered sheep at a slaughterhouse in Tabasco, Mexico. *Veterinaria Mexico*, 42(2).
- Greer A., W. (2008). Trade-offs and benefits: implications of promoting a strong immunity to gastrointestinal parasites in sheep. *Parasite Immunology* 30(2): 123-132.
- en la época de nortes (octubre a enero) con mayores consecuencias para los ovinos ya que se reducen los valores hemáticos por la presencia de *Haemonchus contortus*. Sin embargo, durante la primera infección de los corderos no se logran observar diferencias inmunológicas celulares y la cantidad de eosinófilos fue similar antes y después de la infección y entre razas. Sin embargo, sí se observaron diferencias en los meses y localidades.
- Los niveles de IgA mostraron diferencias entre los factores estudiados pero la respuesta inmune específica respecto al estándar positivo fue menor a 6.9 % y no fue suficiente para reducir los efectos del parasitismo con nematodos gastrointestinales.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Centro de Capacitación y Reproducción de Especies Menores (CECAREM) de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Forestal y Pesca (SEDAFOP), Gobierno del Estado de Tabasco, a los ranchos particulares Santa Martha y San Francisco por las facilidades otorgadas para el desarrollo del trabajo.

Fin de la versión en español

- Henderson N., G., & Stear M., J. (2006). Eosinophil and IgA responses in sheep infected with *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 112(1): 62-66.
- Idris A, Moors E, Sohnrey B, & Gauly M. (2012). Gastrointestinal nematode infections in German sheep. *Parasitology Research* 110(4): 1453-1459.
- Kemper K., E., Palmer D., G., Liu S., M., Greeff J., C., Bishop S., C., & Karlsson L. J., E. (2010). Reduction of faecal worm egg count, worm numbers and worm fecundity in sheep selected for worm resistance following artificial infection with *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology* 171: 238-246.
- Klion A., D., & Nutman T., B. (2004). The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 113: 30-37.
- Larios R., J., & Hernández, J. (1992). Fisiografía, ambientes y uso agrícola de la tierra en Tabasco, México. Ed. Chapingo, Texcoco, México. 125 pp.
- Meeusen E., N., Balic, A., & Bowles V (2005). Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 108(1): 121-125.
- Morgan E., R., & Van Dijk, J. (2012). Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. *Veterinary Parasitology* 189(1): 8-14.

- Notter D., R., Andrew S., A., & Zajac A., M. (2003). Responses of hair and wool sheep to a single fixed dose of infective larvae of *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research* 47:221-225.
- Nwosu C., O., Madu P., P., & Richards W., S. (2007). Prevalence and seasonal changes in the population of gastrointestinal nematodes of small ruminants in the semi-arid zone of north-eastern Nigeria. *Veterinary Parasitology* 144:118-124.
- Roeber, F., Jex, A. R., & Gasser R., B. (2013). Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance-an Australian perspective. *Parasites y vectors* 6(1): 153.
- Rojo-Vázquez, F. A., Meana, A., Valcárcel, F., & Martínez-Valladares, M. (2012). Update on trematode infections in sheep. *Veterinary Parasitology* 189(1): 15-38.
- SAS Institute Inc. (2004). SAS/STAT® User's Guide, Version 9.2, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shaw, R. J., Morris C., A, Wheeler, M., Tate, M., & Sutherland I., A. (2012). Salivary IgA: a suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. *Veterinary Parasitology* 186: 109-117.
- Sissay M., M., Uggla, A., & Waller, P. J. (2007). Epidemiology and seasonal dynamics of gastrointestinal nematode infections of sheep in a semi-arid region of eastern Ethiopia. *Veterinary Parasitology* 143(3): 311-321.
- Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs O., F. J. (1986). Diagnóstico de las helmintiasis por medio del Examen Coprológico, Janssen Research Foundation, Beerse, Bélgica. 187 pp.
- Torres-Acosta, J. F., J., Sandoval-Castro, C. A., Hoste, H., Aguilar-Caballero A., J., Cámara Sarmiento, R., & Alonso-Díaz, M. A. (2012). Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Ruminant Research* 103(1): 28-40.
- Vanimisetti H., B., Andrew S., L., Zajac A., M., & Notter D., R. (2004). Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*, *Journal of Animal Science* 82(6): 1602-1611.