

¿Se puede controlar la población de nematodos gastrointestinales que parasitan a ovinos y caprinos por bloqueo del desenvaine larval?^φ

Mario Antonio Mendoza-Nuñez¹, Juan Felipe de Jesús Torres-Acosta^{1*},
María Gabriela Mancilla-Montelongo², Carlos Alfredo Sandoval-Castro¹

Introducción

Los pequeños rumiantes (*i.e.*, ovinos y caprinos) en pastoreo pueden ser infectados en su sistema digestivo por nematodos gastrointestinales (NGIs). Los NGIs son gusanos (helminths) endoparásitos, con un cuerpo cilíndrico no segmentado, que causan daños a los rumiantes desde leves hasta severos, e incluso la muerte (Flay *et al.* 2022). La severidad del daño depende de: (a) la capacidad de la especie de NGI para provocar enfermedad, (b) la cantidad de parásitos en el animal (*i.e.*, carga parasitaria) y (c) las características individuales de cada animal parasitado (*i.e.*, genética, edad, estado nutricional, otras enfermedades) (Besier *et al.* 2016).

El ciclo de vida de los NGIs es directo, es decir, no necesitan infectar a otros animales antes de llegar a los pequeños rumiantes y tal ciclo tiene siete etapas: huevo, cinco estadios de desarrollo larval (L₁, L₂, L₃, L₄ y L₅) y adulto, que pueden ser macho o hembra (Crilly *et al.* 2020). El objetivo de este artículo es describir la importancia biológica de la fase larval L₃ y su desenvaine (*i.e.*, desprendimiento de su cutícula protectora para desarrollarse), para infectar a pequeños rumiantes, abordar las metodologías para evaluar la inhibición del desenvaine (*in*

^φ ¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. ²Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación - Universidad Autónoma de Yucatán. *tacosta@correo.uady.mx
DOI: <http://doi.org/10.56369/BAC.7127>



vitro, *in situ* e *in vivo*) y discutir sus ventajas y desventajas para la evaluación de materiales de origen vegetal.

Importancia de la vaina y el desenvaine en larvas L_3

A diferencia de las etapas larvales L_1 y L_2 , la etapa L_3 no puede alimentarse porque tiene una vaina que recubre por completo su cuerpo. La función de la vaina es proteger a la larva L_3 de condiciones ambientales adversas, como la desecación y la radiación solar, al mantenerse sobre las hojas del forraje a la espera de ser consumida (O'Connor *et al.* 2006). Sin embargo, una vez que la larva L_3 es consumida por rumiantes, la vaina protectora debe eliminarse para que la larva L_3 alcance la fase adulta. Este proceso se conoce como desenvaine y tiene lugar cuando la larva L_3 recibe estímulos fisicoquímicos al transitar por el tracto gastrointestinal del hospedador con un pH neutro, concentración alta de CO_2 y el cambio de temperatura ($\sim 39^\circ C$) (Hertzberg *et al.* 2002) (Fig. 1).

Al microscopio, puede apreciarse que el desenvaine inicia con la formación de un anillo que constriñe la vaina de la larva hasta que ocasiona desprendimiento del capuchón en la región anterior por donde la larva emerge, y así se le conoce como larva L_3 desenvainada. Esta se prepara para establecerse en la porción del tracto gastrointestinal del hospedador que corresponde a cada especie de NGI y continuar hacia las etapas larvales L_4 , L_5 y adulta (Miranda-Miranda *et al.* 2026).

Es indispensable que el desenvaine tenga lugar en la sección del órgano previo a su destino final. Por ejemplo, para el NGI abomasal *Haemonchus contortus* el desenvaine ocurre en el rumen y para *Trichostrongylus colubriformis*, que habita el intestino delgado, ocurre en el abomaso o cuajo, previa estimulación por el ambiente ruminal (Miranda-Miranda *et al.* 2026). Como todo proceso biológico, la velocidad del desenvaine, y el tiempo que las larvas L_3 tardan en llegar a su destino después de ser ingeridas, es variable. Una proporción de las larvas L_3 no completa a tiempo su desenvaine y pierde la oportunidad de establecerse y alcanzar la adultez (Hertzberg *et al.* 2002).

El bloqueo del desenvaine de larvas L_3 con materiales bioactivos de plantas

Cualquier proceso que disminuya el desenvaine de las larvas L_3 provocaría menor establecimiento poblacional de NGIs y, consecuentemente, un menor impacto sobre la salud y productividad de pequeños rumiantes (Brunet *et al.* 2008). Varias investigaciones científicas han identificado en plantas ciertos compuestos químicos, conocidos como metabolitos secundarios, que afectan el desenvaine de las larvas. Las plantas, por ejemplo, *Lysiloma latisiliquum*, *Onobrychis viciifolia* y *Gymnopodium floribundum*, al ser digeridas podrían liberar metabolitos secundarios en el rumen que, al entrar en contacto con las larvas L_3 consumidas, afectan el desenvaine (Brunet *et al.* 2007, 2008; Méndez-Ortiz *et al.* 2019).

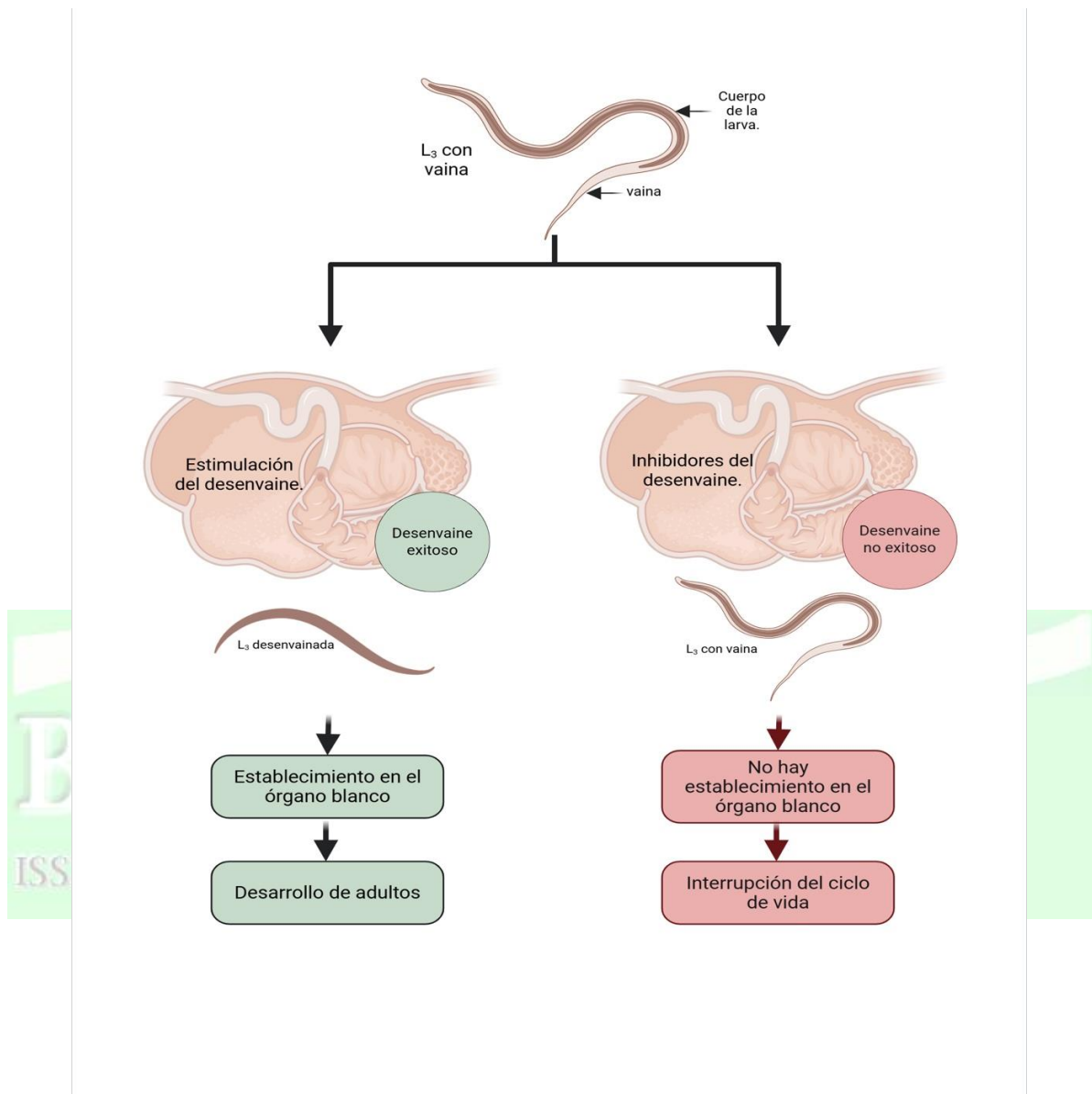


Figura 1. Importancia del desvaine de larvas L₃ de nematodos gastrointestinales (NGIs). De manera eficiente, las larvas L₃ pueden establecerse y continuar su ciclo de vida; sin embargo, si el desvaine se retrasa, el ciclo de vida de los NGIs es interrumpido (Creado en BioRender por Mario Antonio Mendoza Nuñez 2026). <https://BioRender.com/ntzp9vh>.

Un enfoque práctico para aplicar los metabolitos secundarios consiste en incluir plantas en la dieta del rumiante como estrategia integral para el control de las infecciones por NGIs (Torres-Fajardo *et al.* 2021). Para identificar si una planta tiene compuestos que afectan el desvaine, se han propuesto técnicas *in vitro*, *in situ* e *in vivo*, y cada una tiene ventajas y desventajas. Estas técnicas deben considerarse como herramientas para seleccionar plantas y evaluar su efectividad para evitar el desvaine de las larvas L₃.

“Los pequeños rumiantes (i.e., ovínos y caprínos) en pastoreo pueden ser infectados en su sistema digestivo por nematodos gastrointestinales (NGIs). Los NGIs son gusanos (helminths) endoparásitos, con un cuerpo cilíndrico no segmentado, que causan daños a los rumiantes desde leves hasta severos, e incluso la muerte.”

Técnicas *in vitro* para el bloqueo del desenvaine

Una técnica *in vitro* se refiere a bioensayos de laboratorio, con tubos de ensayo, placas y vasos de precipitado, que se realizan fuera del animal aunque se pueden usar fluidos o microbiota de animales (Jain *et al.* 2018). Los resultados de estas técnicas son los más reportados en la literatura científica por ser rápidos y estandarizados, tener costo bajo y permitir evaluar extractos vegetales o compuestos puros (Villalba y Provenza 2010). Además, al calcular la concentración que afecta al 50% de la población (CE_{50}) de NGIs se puede comparar la efectividad entre distintos compuestos botánicos. La limitante es que no permite evaluar las plantas, o secciones completas (*e.g.*, hojas, tallos o frutos), y es indispensable la extracción previa de los metabolitos secundarios con solventes orgánicos. Las metodologías disponibles son:

i. Prueba de inhibición del desenvaine larval. Es la técnica más reportada y consiste en poner en contacto larvas L_3 a diferentes concentraciones del extracto vegetal de interés (incubación) para inducir artificialmente el desenvaine (Torres-Fajardo *et al.* 2021). Con un microscopio óptico se registra el porcentaje de larvas desenvainadas a diferentes tiempos (Fig. 2). La larva es considerada como desenvainada si inició tal proceso sin importar el grado de avance. Además, se emplean larvas L_3 no expuestas a extractos consideradas un grupo control. Si las larvas expuestas reducen su desenvaine con respecto al grupo control, se considera que el extracto fue efectivo (Jackson y Hoste 2010). Además, con la proporción de larvas envainadas/desenvainadas se calcula la concentración del extracto necesario para reducir (inhibir) el desenvaine a un 50% (CE_{50}) de las larvas L_3 . Esto permite comparar diferentes extractos y cepas de NGIs o condiciones de incubación. Su limitante es que las condiciones de incubación no consideran los efectos del ambiente. Por ejemplo, en el rumen hay microorganismos, enzimas y condiciones ambientales que influyen en la estructura y estabilidad de los metabolitos secundarios.

1. Incubar larvas L_3 de nematodos gastrointestinales durante 3 h a 23 °C con diferentes concentraciones del extracto de interés.

2. Realizar tres lavados con PBS para retirar el extracto.

3. Separar cuatro submuestras por cada concentración e inducir artificialmente el desenvaine con NaClO (2%) y NaCl (16.5%).

4. Interrumpir el desenvaine a diferentes tiempos (0, 20, 40 y 60 min).

5. Contar la cantidad de larvas con y sin vaina y la concentración efectiva media.

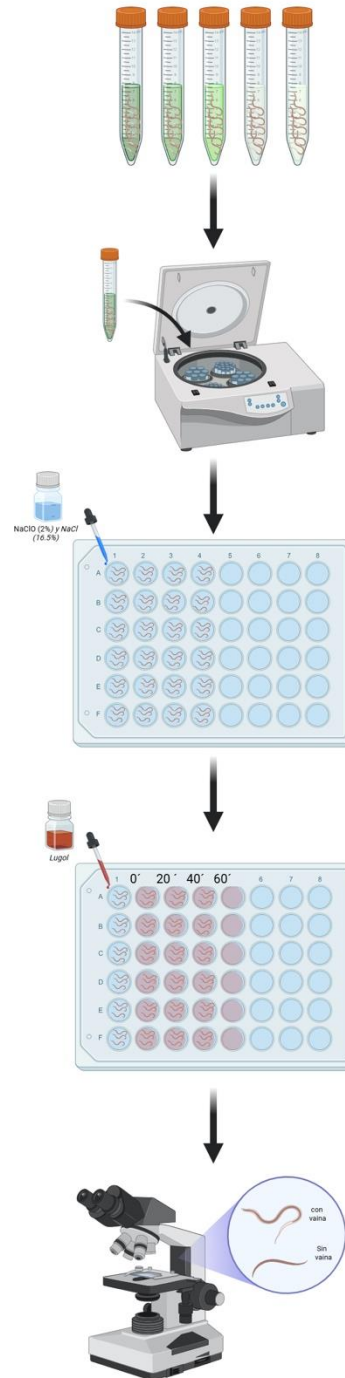
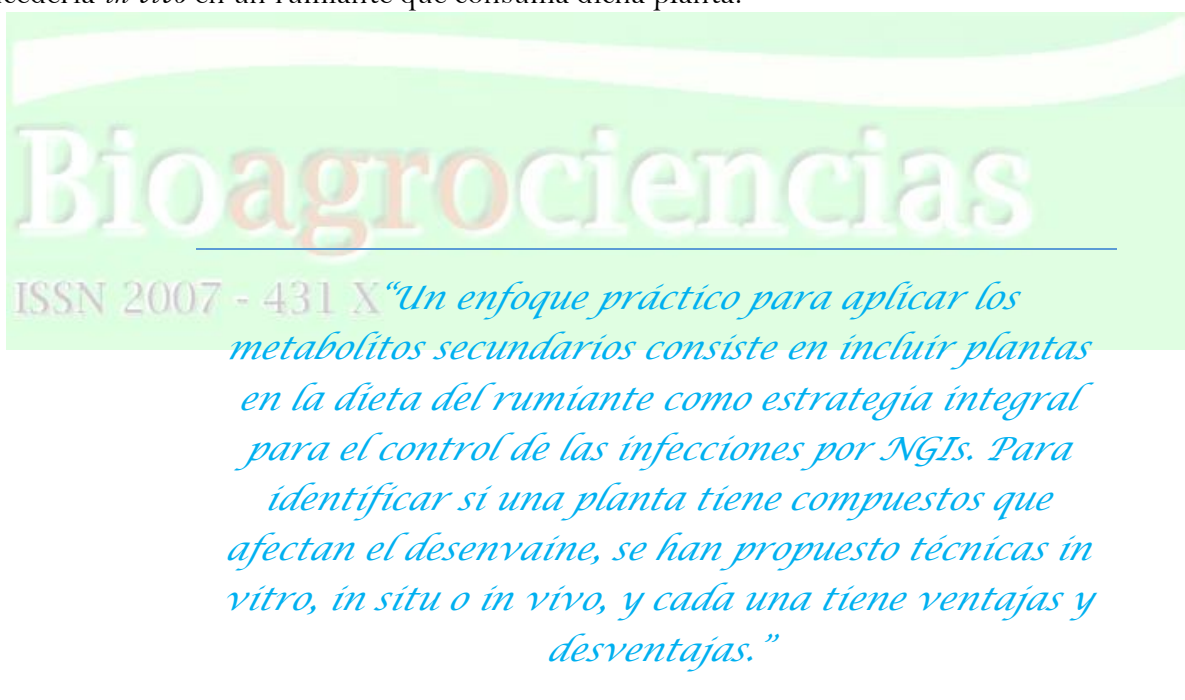


Figura 2. Prueba de inhibición del desenvaine larval. Permite identificar el efecto de un extracto vegetal contra el desenvaine de larvas L_3 , por comparación del porcentaje de desenvaine observado en larvas expuestas y no expuestas al extracto (Creado en BioRender por Mario Antonio Mendoza Núñez 2026). <https://BioRender.com/ntzp9vh>.

ii. **Prueba de desenvaine ruminal *in vitro*:** Propone una mejora para comprobar la actividad de un extracto vegetal sobre la inhibición del desenvaine larval y requiere dispositivos para incubar larvas L₃ en líquido ruminal con el extracto vegetal a evaluar (Marin-Tun *et al.* 2024). De esta forma, las larvas L₃ quedan expuestas al extracto vegetal de interés en la complejidad del líquido ruminal para identificar su efecto sobre el desenvaine (Fig. 3). Bajo observación con microscopio se identifica el porcentaje de desenvaine a diferentes tiempos de incubación, y con estos datos se obtiene la cinética de desenvaine (*i.e.*, velocidad a la que las larvas desenvainan) y ciertos parámetros, como T₅₀ (*i.e.*, tiempo dentro del cual el 50% de las larvas han desenvainado), V (*i.e.*, velocidad) y %_{max} (*i.e.*, porcentaje máximo de desenvaine) (Marin-Tun *et al.* 2024). Al comparar estos parámetros entre distintos extractos de plantas, pueden identificarse aquellos que son activos. Cualquier cambio en la cinética de desenvaine podría ser relevante, ya que teóricamente reduciría la capacidad de las larvas L₃ para establecerse. El método tiene limitaciones, ya que el uso de extractos quizá permita alcanzar concentraciones de metabolitos secundarios que no se alcancen en condiciones reales de campo (*in vivo*), ya que esto depende de la liberación desde los tejidos vegetales y la digestión de los tejidos vegetales, lo que no puede replicarse en esta metodología (Marin-Tun *et al.* 2024). Por ello, los resultados no deben extrapolarse a lo que sucedería *in vivo* en un rumiante que consuma dicha planta.



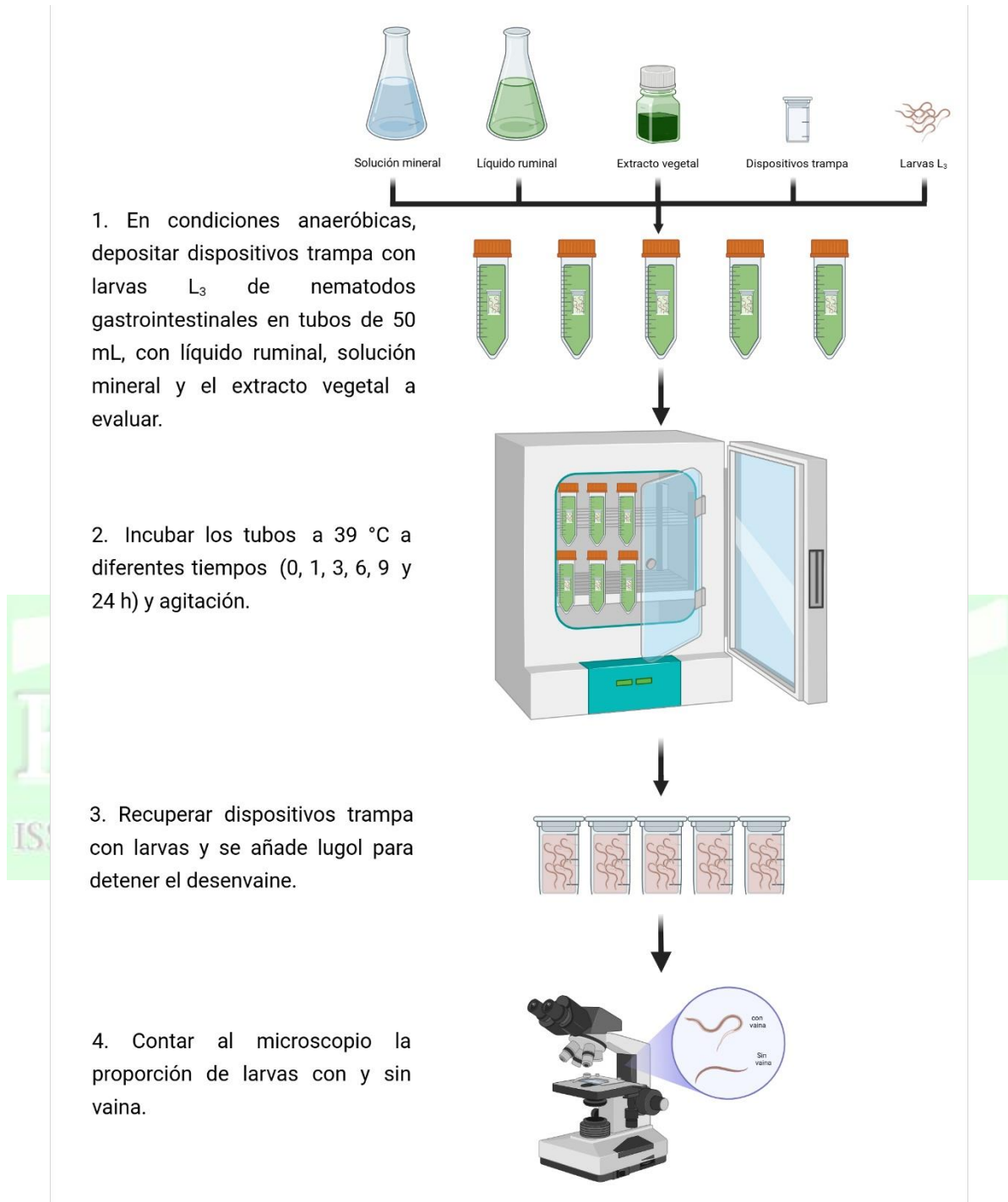


Figura 3. Prueba de desenvaine ruminal *in vitro*. Permite identificar el efecto de un extracto vegetal contra el desenvaine de larvas L_3 en condiciones que simulan el ambiente ruminal (Creado en BioRender por Mario Antonio Mendoza Núñez 2026). <https://BioRender.com/ntzp9vh>.

Técnicas *in situ* para el bloqueo del desenvaine

La importancia de esta técnica permite evaluar el desenvaine de las larvas L_3 dentro del rumen de un animal vivo canulado para incubar dispositivos que contienen larvas L_3 . Se calcula el porcentaje de desenvaine después de distintos tiempos de incubación (Fig. 4) y, dependiendo del número de animales disponibles, se pueden probar simultáneamente distintas concentraciones de la planta en la dieta o ración (nivel de inclusión) (Brunet *et al.* 2007; Lonngren *et al.* 2020).

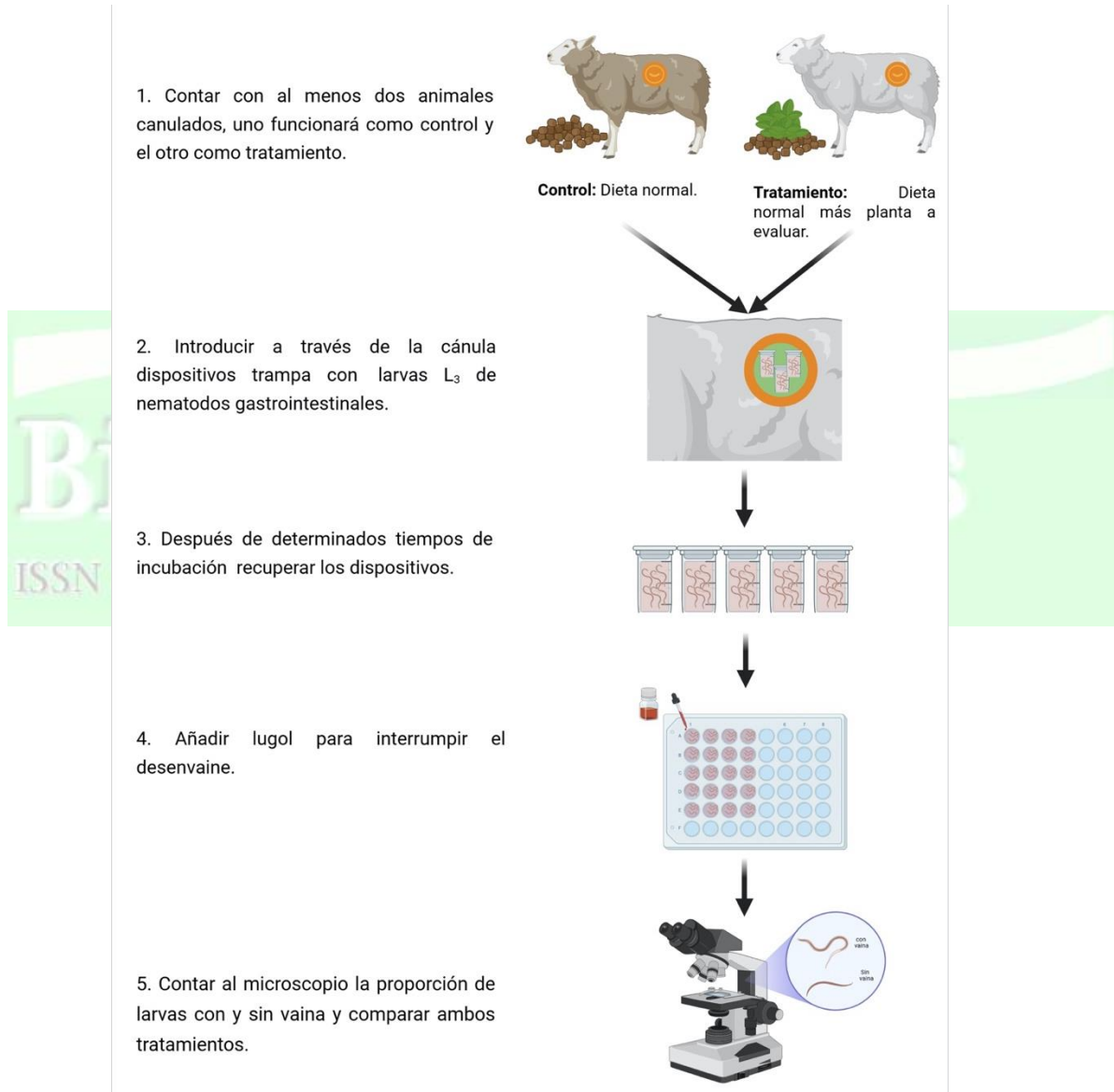


Figura 4. Esquema de la técnica *in situ* para estudiar el bloqueo del desenvaine. Esta técnica se usa para evaluar el efecto del consumo de plantas sobre la velocidad del desenvaine de larvas L_3 en el interior del rumen de ovinos canulados (Creado en BioRender por Mario Antonio Mendoza Nuñez 2026). <https://BioRender.com/ntzp9vh>.

La descripción y comparación de la cinética de desenvaine (T_{50} , V y $\%_{\max}$) obtenida en animales con diferentes dietas permitiría identificar el efecto del consumo de cierta especie de planta sobre el desenvaine, tal como se describió en la prueba de desenvaine ruminal *in vitro* (Marin-Tun *et al.* 2024). La principal ventaja de esta técnica es que permite obtener robustez estadística al elaborar repeticiones múltiples en los mismos animales y no requiere del sacrificio. Lo anterior es congruente con los principios de bienestar animal para reducir el número de animales usados en investigación científica (Asociación Médica Mundial 2024). Por otro lado, el diseño y materiales usados para construir los dispositivos de incubación podrían influir en la eficiencia del protocolo por lo que se debe estandarizar la técnica para que sea replicable por otros grupos científicos alrededor del mundo.

Técnicas *in vivo* para el bloqueo del desenvaine

Los estudios *in vivo* se realizan directo en animales en condiciones reales, y permiten evaluar el efecto del consumo de ciertas plantas sobre el establecimiento de los NGIs en rumiantes (Brunet *et al.* 2008) (Fig. 5). Esta técnica considera todos los pasos naturales: ingestión y digestión de la planta, liberación y degradación de los metabolitos secundarios, ingreso oral de las larvas L_3 y su recorrido por el tracto gastrointestinal, así como la interacción entre el parásito y la respuesta inmune del hospedador.

Para esta técnica, es necesario tener dos o más grupos de rumiantes recién destetados y criados libres de infección y que consuman distintas cantidades de la planta a evaluar. Todos los rumiantes son infectados por vía oral con dosis pre-establecidas de larvas L_3 de la especie de nematodo de interés. Transcurridos los días para el desarrollo de los NGIs adultos, los rumiantes se sacrifican para recuperar y comparar la cantidad de nematodos en los distintos grupos (Burden *et al.* 2024; Méndez-Ortiz *et al.* 2019).

Los estudios *in vivo*, que evalúan el efecto de plantas sobre el desenvaine larval, son escasos debido a que son experimentos complejos y costosos. Además, no evalúan de manera directa el efecto de la planta sobre el desenvaine sino la capacidad de las larvas L_3 para establecerse y desarrollarse hasta adulto en el hospedador, un proceso influido por diversos factores fisiológicos, como la respuesta inmune, la nutrición y el estrés (Nisbet *et al.* 2016). Debido a esta variabilidad biológica, el diseño experimental debe contemplar un tamaño de muestra específico mediante análisis estadísticos para tener certidumbre estadística y para atribuir los efectos observados al consumo de la planta de interés. A pesar de estas limitaciones, la evidencia obtenida es valiosa, ya que permite evaluar el potencial de plantas con propiedades nutraceuticas para su incorporación en la alimentación de los rumiantes como una estrategia para el control de las poblaciones de NGIs.

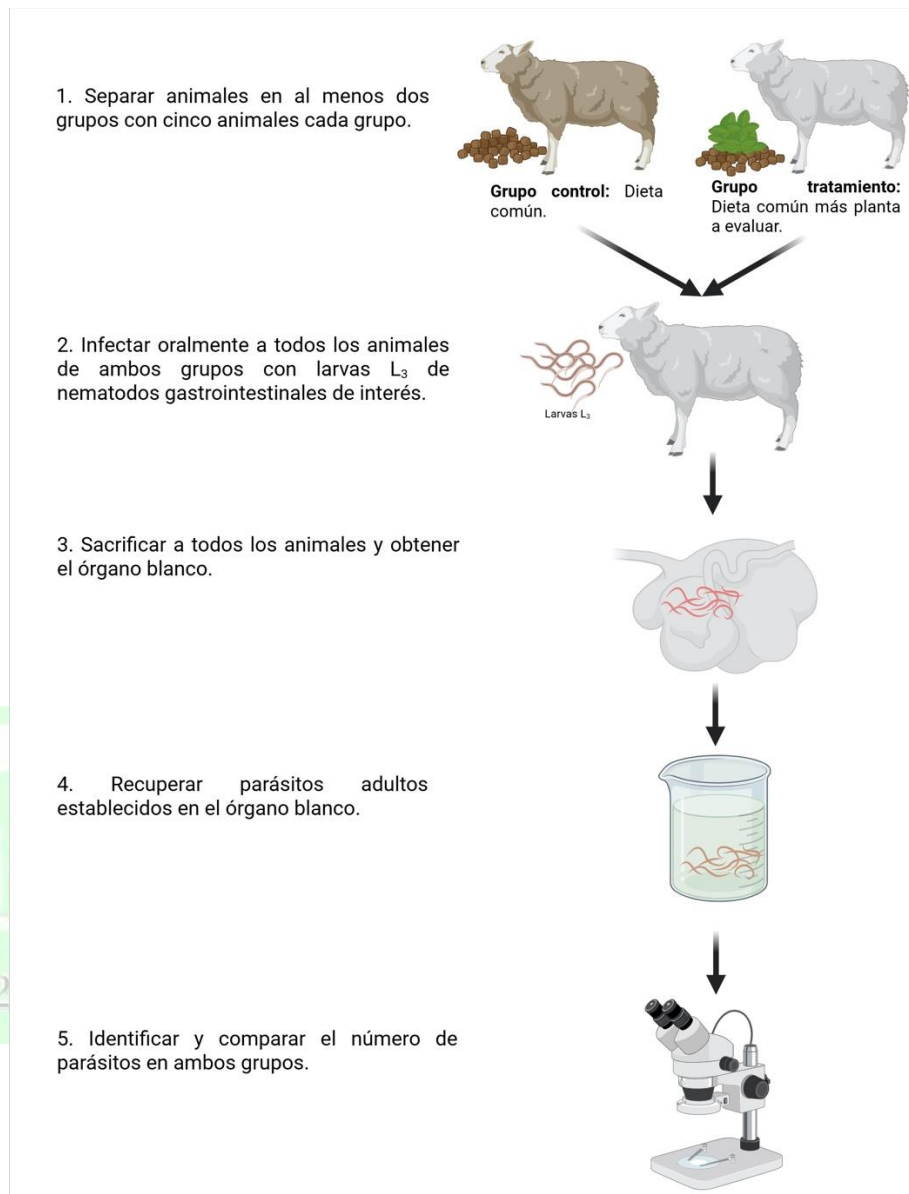


Figura 5. Esquema general de las pruebas *in vivo* para evaluar el efecto del consumo de plantas en la prevención del establecimiento de larvas L_3 y su desarrollo hasta la adultez (Creado en BioRender por Mario Antonio Mendoza Nuñez 2026). <https://BioRender.com/ntzp9vh>.

*“Los estudios *in vivo* se realizan directo en animales en condiciones, y permiten evaluar el efecto del consumo de ciertas plantas sobre el establecimiento de los NGIs en rumiantes.”*

Conclusión

Incluir plantas en la dieta de los pequeños rumiantes (ovinos y caprinos) para retrasar el desenvaine de las larvas L₃ de los NGIs es una estrategia para prevenir el crecimiento poblacional de estos parásitos. Para evaluar el efecto del consumo de plantas sobre el desenvaine de larvas se requieren pasos experimentales que incluyen pruebas *in vitro* seguidas de pruebas *in situ* y pruebas *in vivo*. Limitar el desenvaine larval ocasiona una menor cantidad de carga parasitaria, lo que coadyuva a mejorar la salud y la productividad de los ovinos y caprinos en pastoreo en el trópico.

Agradecimientos

Mario Antonio Mendoza Nuñez agradece a la Secihti por el financiamiento (No. 4045369) para estudios de doctorado en el Posgrado Institucional en Ciencias Agropecuarias y Manejo de Recursos Naturales Tropicales en el Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán. María Gabriela Mancilla Montelongo agradece el apoyo de IxM (Secihti) - proyecto No. 692.

Referencias

- Asociación Médica Mundial (19 octubre 2024). Declaración de Helsinki de la AMM: principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Fecha de consulta 09/07/26 en <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>.
- Besier RB, Kahn LP, Sargison ND y Van Wyk JA. 2016. The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. En: Gasser RB y Von Samson-Himmelstjerna G (eds.) *Advances in parasitology. Haemonchus contortus* and Haemonchosis – past, present and future trends. Elsevier. Amsterdam. pp. 95-143.
- Brunet S, Aufrere J, El Babili F, Fouraste I y Hoste H. 2007. The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in the presence of a tannin-rich plant extract (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. *Parasitology* 134(9):1253-1262.
- Brunet S, Martinez-Ortiz de Montellano C, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Aguilar-Caballero AJ, Capetillo-Leal CM y Hoste H. 2008. Effect of the consumption of *Lysiloma latisiliquum* on the larval establishment of gastrointestinal nematodes in goats. *Veterinary Parasitology* 157(1-2):81-88.
- Burden DJ, Bartley DJ, Besier RB, Claerebout E, Elliott TP *et al.* 2024. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.): third edition of the guideline for evaluating efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology* 329:110187.
- Crilly JP, Evans M, Tähepöld K y Sargison N. 2020. Haemonchosis: dealing with the increasing threat of the barber's pole worm. *Livestock* 25(5):237-246.

- Flay KJ, Hill FI y Muguiro DH. 2022. A review: *Haemonchus contortus* infection in pasture-based sheep production systems, with a focus on the pathogenesis of anaemia and changes in haematological parameters. *Animals* 12(10):1238.
- Hertzberg H, Huwyler U, Kohler L, Rehbein S y Wanner M. 2002. Kinetics of exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae *in vivo* and *in vitro*. *Parasitology* 125(1):65-70.
- Jackson F y Hoste H. 2010. *In vitro* methods for the primary screening of plant products for direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. En: Vercoe PE, Makkar HPS y Schlink AC (eds.). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer. Dordrecht. pp. 25-45.
- Jain AK, Singh D, Dubey K, Maurya R, Mittal S y Pandey AK. 2018. Models and methods for *in vitro* toxicity. En: Dhawan A y Kwon S (eds.). *In vitro* toxicology. Academic Press. Cambridge. pp. 45-65.
- Lonngren KJ, Barone CD, Zajac AM, Brown RN, Reed JD, Krueger CG y Petersson KH. 2020. Effect of birdsfoot trefoil cultivars on exsheathment of *Haemonchus contortus* in fistulated sheep. *Veterinary Parasitology* 287:109271.
- Marin-Tun CG, Torres-Acosta JFJ, Capetillo-Leal CM, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Borges-Argáez R y Mancilla-Montelongo MG. 2024. The *in vitro* rumen exsheathment test for studying the effect of plant extracts on the exsheathment of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Veterinary Parasitology* 328:110184.
- Méndez-Ortiz FA, Sandoval-Castro CA, Ventura-Cordero J, Sarmiento-Franco LA, Santos-Ricalde RH y Torres-Acosta JFJ. 2019. *Gymnopodium floribundum* fodder as a model for the *in vivo* evaluation of nutraceutical value against *Haemonchus contortus*. *Tropical Animal Health and Production* 51:1591-1599.
- Miranda-Miranda DY, Marin-Tun CG, Capetillo-Leal CM, Mancilla-Montelongo MG, Sandoval-Castro CA y Torres-Acosta JFJ. 2026. The *in vitro* exsheathment kinetics of *Trichostrongylus colubriformis* L₃ in ruminal, abomasal, and two-stage incubation protocols. *Veterinary Parasitology* 343:110715.
- Nisbet AJ, Meeusen EN, González JF y Piedrafita DM. 2016. Immunity to *Haemonchus contortus* and vaccine development. En: Gasser RB y Von Samson-Himmelstjerna G (eds.) *Advances in parasitology. Haemonchus contortus* and Haemonchosis – past, present and future trends. Elsevier. Amsterdam. pp. 353-396.
- O'Connor LJ, Walkden-Brown SW y Kahn LP. 2006. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology* 142(1-2):1-15.
- Torres-Fajardo RA, González-Pech PG, Torres-Acosta JFJ y Sandoval-Castro CA. 2021. Nutraceutical potential of the low deciduous forest to improve small ruminant nutrition and health: a systematic review. *Agronomy* 11(7):1403.
- Villalba JJ y Provenza FD. 2010. Challenges in extrapolating *in vitro* findings to *in vivo* evaluation of plant resources. En: Vercoe PE, Makkar HPS y Schlink AC (eds.). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer. Dordrecht. pp. 233-242.

Mendoza-Núñez MA, Torres-Acosta JFJ, Mancilla-Montelongo MG, Sandoval-Castro CA. 2026. ¿Se puede controlar la población de nematodos gastrointestinales que parasitan a ovinos y caprinos por bloqueo del desenvaine larval? *Bioagrociencias* 19 (2): 32-43.

DOI: <https://doi.org/10.56369/BAC.7127>