

Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes

Técnicas de laboratorio e interpretación de resultados

CÉSAR A. FIEL / PEDRO E. STEFFAN / DIEGO A. FERREYRA



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Pfizer Sanidad Animal



Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes

Técnicas de laboratorio e interpretación de resultados

CÉSAR A. FIEL / PEDRO E. STEFFAN / DIEGO A. FERREYRA



Título: *Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: técnicas de diagnóstico e interpretación de resultados.*

Autores/editores: Fiel, C.A; Steffan, P.E; Ferreyra, D.A.

Primera edición - Tandil: Abad Benjamin, 2011.
131 p.: il. ; 29x21 cm.

1. Parasitología. 2. Análisis de Laboratorio. 3. Rumiantes.
I. Título
CDD 578.65

ISBN 978-987-33-1502-2

Impreso en la República Argentina.

Abad Benjamin
Pacheco 2709, 8°C (1431) Capital Federal
Buenos Aires, República Argentina.

Proyecto a cargo de Pfizer
pfizer.sanidadanimal@pfizer.com

Reservados todos los derechos de la presente edición para todos los países. Este Manual no se podrá reproducir total o parcialmente por ningún método gráfico o cualquier otro, sin expreso consentimiento de sus autores.

Curriculum Vitae de los Autores



**CÉSAR
ALBERTO
FIEL**

Egresó como Médico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.C.P.B.A.-Tandil en 1979. Desde 1980 hasta 1985 se desempeñó en el INTA Balcarce como becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Por sus trabajos de Epidemiología parasitaria de los nematodos gastrointestinales de los bovinos recibió el premio "Bernardo Houssey" del CONICET en el año 1987, y el premio "Román Niec" de la Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria (A.A.Pa. Vet.) en tres oportunidades (1987, 1993 y 1995) y cuatro menciones (2001 y 2004, 2006 y 2011). En el año 2006 recibió el premio "Jorge Nuñez" de la misma Asociación en reconocimiento a su trayectoria y contribución al desarrollo del conocimiento en Parasitología Veterinaria. Es editor y uno de los 28 autores del libro "Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos" Ed. Hemisferio Sur, 1994. Tiene publicado unos 100 artículos en revistas nacionales e internacionales y presentado numerosos trabajos en congresos y jornadas. A partir de 1989 inicia un sostenido Programa de Transferencia Tecnológica dirigido a Médicos Veterinarios de la actividad privada, siendo el Programa Parasitológico Integrado y las Clínicas parasitológicas, los últimos de ellos. Desde 1988 se desempeña como docente con dedicación exclusiva en el Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.C.P.B.A., ocupando en la actualidad el cargo de Profesor Titular y Jefe del Área de Parasitología en el departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP).



**PEDRO
EDUARDO
STEFFAN**

Se graduó como Médico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata en 1975. Fue becario de iniciación (1977) y de perfeccionamiento (1980) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Becario externo (1986) para el mismo Instituto en el proyecto INTA-BID desarrollando sus estudios en la Royal Veterinary & Agricultural University en Copenhague, Dinamarca. Finalizó su Doctorado en Ciencia Animal (Ph.D.) en 1989. Por sus trabajos en Epidemiología parasitaria de los nematodos gastrointestinales de los bovinos recibió el premio "Dr. Román Niec" (1987) otorgado por la Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria (AAPAVET). En 1997 recibió el Premio Bayer en Ciencias Veterinarias otorgado por la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria en reconocimiento a la trayectoria en el campo de las Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Es autor y/o co-autor de 12 Obras, más de 70 Trabajos de Investigación, 2 Actualizaciones y 36 Artículos de Divulgación, publicados en revistas especializadas nacionales e internacionales y medios de difusión agropecuaria locales y nacionales. Desde el 2005 es Consultor Nacional del Proyecto FAO TCP ARG 3003, "Mejoramiento de la Trichinellosis en Argentina". Actualmente se desempeña como Profesor Titular Ordinario con dedicación semi-exclusiva, en el Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias del Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil.



**DIEGO
ALBERTO
FERREYRA**

Se graduó como Médico Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata en 1993. Durante 1993-94 realizó el Curso de Residencia Interna en Sanidad Animal - EEA INTA Balcarce, orientación Diagnóstico y Parasitología. De 1996 a 2001 se desempeñó como Becario de Iniciación y Perfeccionamiento de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNCPBA. En 1998 obtuvo su Magister Scientiae en el Posgrado en Producción Animal de la Unidad Integrada Balcarce (EEA INTA Balcarce y Facultad de Cs. Agrarias, UNMdP). Fue Jefe de Trabajos Prácticos del Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA - Tandil, donde actualmente se desempeña como colaborador externo Ad-Honorem. Durante 2000 y 2001 trabajó como Promotor Técnico y Gerente de Territorio de la División Sanidad Animal de Pfizer Argentina. Desde 2001 padece Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), enfermedad neurodegenerativa de origen desconocido que afecta las neuronas motoras de todo el organismo. La participación en este trabajo fue posible gracias a la utilización de un dispositivo para manejar la computadora con la vista denominado Iriscom.

Prólogo

Los sistemas de producción de carne, leche y lana en bovinos y ovinos han mostrado una evolución permanente y dinámica en las últimas décadas, lo que ha traído aparejado también, nuevas metas de producción en un marco de intensificación de las unidades productivas y la consigna de lograr productos finales con aceptables o nulos residuos químicos perjudiciales para la salud de quien los consume.

En ese marco, el riesgo y la intensidad de las enfermedades que afectan al ganado se han incrementado también, a punto tal, que ha exigido un esfuerzo adicional al trabajo que tradicionalmente se ha realizado para prevenirlas o controlarlas. Ésto es particularmente importante en las parasitosis internas y externas que afectan significativamente la productividad de los animales.

La utilización de los mismos principios activos durante varias décadas como herramienta casi exclusiva para el control de las enfermedades parasitarias ha generado el desarrollo del fenómeno de resistencia, abriendo un escenario de actuación profesional diferente, donde se revaloriza significativamente el conocimiento y el entendimiento de los procesos que se interrelacionan en la secuencia animal-medioambiente-parásitos y la eficiencia final que tendrá el sistema de producción. Con esta demanda productiva y sanitaria, la difusión de la experiencia surgida de los trabajos de investigación básica y experimentación a través de los años debe ser adaptada y transmitida rápidamente a los sectores profesionales privados involucrados en medicina veterinaria para lograr una multiplicación de la misma y llegada a los usuarios finales del sistema de producción.

Los antecedentes de transferencia tecnológica por parte del Área de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Tandil (UNCPBA) se remiten a: el "Sistema de Alarma Parasitaria" (SAP) 1989-92, llevado a cabo en los partidos de Ayacucho, Azul y Benito Juárez; el plan piloto "Control de parásitos gastrointestinales en sistemas intensivos de producción de carne" 1993-94 realizado en el partido de Cnel. Pringles; el "Sistema Integrado de Alarma Parasitaria" (SIAPA) 1994-96 y el "Programa Parasitológico Integrado (Pro.P.I.) 1998-2000. Se trata de una concepción de trabajo conjunto que involucra a la esfera oficial y privada en el control de las parasitosis internas de los bovinos. En aquella oportunidad fue necesario elaborar un Manual que sirviera de base diagnóstica a los colegas que asistían a los cursos de actualización previos al inicio de los seguimientos de campo.

Actualmente, estamos dando inicio a un nuevo programa denominado "**CONTROL PARASITARIO SUSTENTABLE (CPS)**", que se desarrollará en una secuencia de actividades concentradas en tres etapas:

1. TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA, dirigida a Asesores Veterinarios Privados y contempla:

a) Cursos de actualización teórico y práctico, b) Manual de Entrenamiento, Metodología de Laboratorio e Interpretación de Resultados y c) Material demostrativo didáctico e implementos para el diagnóstico de laboratorio.

2. SERVICIO ESPECIALIZADO DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO, para los establecimientos del Programa CPS e involucra:

a) Determinación del estatus de resistencia de las poblaciones parasitarias, b) Evaluación de la eficacia clínica por principio activo y c) Prospectiva del fenómeno de resistencia considerando los géneros parasitarios y los principios involucrados en el fenómeno.

3. PROGRAMAS DE CONTROL SUSTENTABLE, para los establecimientos del Programa CPS en base a:

a) Selección de los principios activos que se utilizarán en el Programa CPS, b) Implementación de un programa racional en base a los riesgos de la enfermedad en el sistema, antecedentes epidemiológicos, tipo y perfil de producción y determinación de las oportunidades de tratamiento antiparasitario y c) Seguimiento del sistema para garantizar las metas productivas y de control con énfasis en la obtención de productos finales con nulos/aceptados niveles de residuos químicos en los tejidos comestibles.

El nuevo marco productivo y sanitario genera nuevos desafíos profesionales y técnicos que obligan a actualizar los soportes teóricos y prácticos que se desarrollaron en los programas anteriores, por lo que esperamos que este Manual constituya un paso superador y de ayuda en la práctica profesional.

LOS AUTORES

Introducción

Como es sabido, la actividad de diagnóstico es una de las facetas de mayor complejidad en la rutina de los veterinarios que ejercen su profesión a campo.

El éxito o el fracaso del diagnóstico dependen de diversos factores en los que, la experiencia profesional, el conocimiento de la casuística zonal y el apoyo de laboratorio ante casos de mayor complejidad, resultan esenciales.

También es cierto que, el colega deberá tener la capacidad de interpretar signos y síntomas como fase inicial del diagnóstico, y que muchas veces tales indicadores no son demasiado precisos, de manera que un mismo síntoma puede referir a varias enfermedades.

Este Manual fue elaborado con el objetivo primario de auxiliar al veterinario de la actividad privada en el logro de un diagnóstico rápido y con la mayor precisión posible de las enfermedades parasitarias.

En tal sentido, el colega podrá ingresar a través de la especie animal y el síntoma/signo observado, y en base a ello encontrará una breve reseña de las posibles enfermedades que lo producen, los agentes causales, la localización y la categoría animal afectada.

Luego de obtenida esa información, el lector podrá profundizar en los aspectos diagnósticos, el procedimiento de laboratorio y la interpretación de resultados tendientes a facilitar la práctica veterinaria.

En función de lo expresado se han seleccionado doce técnicas, a saber:

DIAGNÓSTICO DE ENDOPARÁSITOS

1. Recuento de huevos (H.p.g.) en heces
2. Cultivo y recuperación de larvas infectivas (L3) de nematodos gastrointestinales
3. Identificación de larvas infectivas (L3) de nematodos gastrointestinales
4. Recuperación de larvas de nematodos de pulmón desde las heces (Método de Baermann)
5. Determinación de la infectividad de las praderas
6. Recuento e identificación de parásitos adultos en aparato digestivo
7. Recuperación de formas inmaduras del cuajo e intestino delgado
8. Recuento de parásitos pulmonares
9. Técnica de sedimentación para el diagnóstico coprológico de *Fasciola hepática*.
10. Diagnóstico de Resistencia a los antihelmínticos

DIAGNÓSTICO DE ECTOPARÁSITOS

11. Identificación de ácaros de la sarna
12. Identificación de piojos
13. Otras observaciones

Cuadro de clasificación por signos y síntomas

| BOVINOS | | | | | |
|--------------------------------|--------------------------|--|-------------------------------------|--|----------------------------|
| CUADRO CLÍNICO | CARACTERÍSTICA PRINCIPAL | AGENTE CAUSAL | LOCALIZACIÓN | CATEGORÍA ANIMAL | ENFERMEDAD PARASITARIA |
| Diarrea | ▶ Sanguinolenta | Coccidios: <i>Eimeria zuernii</i> , <i>E. bovis</i> , etc. | Vellosidades intestinales | Jóvenes. Asociada a situación de estrés (destete, desordenes nutricionales) | Coccidiosis |
| | ▶ Acuosa profusa | Nematodos: <i>Ostertagia Cooperia</i> , <i>Trichostrongylus</i> , etc. | Abomaso, Intestino delgado y grueso | Frecuente entre el destete y los 2 años de edad. En especial en otoño-invierno. | Gastroenteritis verminosa |
| Ictericia | Obstrucción biliar | Trematode: <i>Fasciola hepática</i> | Hígado | Todas, especialmente de 1-3 años de edad, en potreros bajos e inundables | Distomatosis o Fasciolosis |
| Trastornos respiratorios | ▶ Tos, disnea | Dictyocaulus viviparus | Bronquios y bronquiolos | Jóvenes, en ganado de carne entre el destete y mediados de invierno. | Bronquitis verminosa |
| | ▶ Catarro nasal | | | En ganado lechero, más frecuente en crías intensivas en condiciones de hacinamiento. | |
| Rascado, lamido lesión cutánea | ▶ Húmedas | Ácaros: <i>Psoróptes bovis</i> | Inicialmente cruz y base de La cola | Todas, con mayor intensidad en toros. | Sarna |
| | ▶ Secas | Insectos: Piojo masticador | Dorso y lomo | Todas, en animales desparasitados con Ivermectina | |
| | | Piojos chupadores | Lateral y ventral | Todas | Pediculosis |

OVINOS

| CUADRO CLÍNICO | CARACTERÍSTICA PRINCIPAL | AGENTE CAUSAL | LOCALIZACIÓN | CATEGORÍA ANIMAL | ENFERMEDAD PARASITARIA |
|--------------------------------------|---|---|--|--|--|
| Diarrea | ► Sanguinolenta | Coccidios: <i>Eimeria parva</i> , <i>E.intricata</i> , etc. | Vellosidades intestinales | Más frecuente, entre 2 y 8 meses de edad | Coccidiosis |
| | ► Oscura. | Nematodos: <i>Trichostrongylus colubriformis</i> y <i>Nematodirus</i> . | Intestino delgado | Todas, más frecuente entre el destete y los 2 años de edad. En especial en otoño-invierno. | Gastroenteritis verminosa |
| Asintomático y mortal | ► Anemia (aguda) | Nematodos: <i>Haemonchus contortus</i> | Abomaso | Todas, más frecuente entre los 2-3 meses y los 2 años de edad. En especial en años lluviosos a fines de primavera y otoño | Haemonchosis |
| Formaciones blanquecinas en M. Fecal | ► Proglótidos de tamaño y formas variables, contráctil en M. Fecal fresca | Cestodos: <i>Moniezia expansa</i> (más común) y <i>benedeni</i> <i>Thysanosoma actinooides</i> | Intestino delgado Colédoco y conductos biliares | Todas, en ocasiones hacia fines de primavera-verano produce obstrucciones intestinales predisponiendo a las clostridiosis. | En general no producen enfermedad clínica. |
| Ictericia | Anemia aguda y obstrucción biliar | Trematode: <i>Fasciola hepática</i> | Hígado | Todas, en potreros bajos e inundables. Es común el cuadro agudo ante infecciones severas | Distomatosis o Fasciolosis |
| Trastornos respiratorios | ► Tos, disnea ► Catarro nasal | <i>Dictyocaulus filaria</i> | Bronquios y bronquiolos | Jóvenes, en otoño-invierno. | Bronquitis verminosa |
| Rascado, lamido, lesión cutánea | ► Húmedas | Ácaros: <i>Psoroptes ovis</i> | Inicialmente Cruz y dorso | Todas. | Sarna |
| | ► Secas | Insectos: Piojo masticador | Dorso y lomo | Todas, en animales desparasitados con Ivermectina | |
| | | Piojos chupadores | Patatas y cara | Todas | Pediculosis |

Diagnóstico de endoparásitos

Los parasitismos patentes se detectan mediante el diagnóstico parasitológico, en tanto que para los no-patentes se recurre frecuentemente a la inmunología en la búsqueda de la respuesta celular o humoral específica.

El logro del diagnóstico correcto de una infección parasitaria depende de varios factores tales como, la forma de recolección de la muestra, el transporte al laboratorio (forma y tiempo transcurrido) y el método de laboratorio utilizado.

La mayoría de los parásitos que afectan a los animales se encuentran en el tubo digestivo, y en consecuencia su diagnóstico se realiza más frecuentemente por coprología.

Sin embargo, las infecciones por estadios inmaduros, latentes y las infecciones ocultas presentan un desafío diagnóstico, requiriendo de técnicas especiales.

Algunos factores importantes que deben ser tenidos en cuenta en el diagnóstico del parasitismo y en la interpretación de resultados son:

- ▶ La edad del hospedador .
- ▶ La exposición previa a las parasitosis (inmunidad).
- ▶ El período del año.
- ▶ El estado fisiológico (parto, servicio, etc.).
- ▶ La localización geográfica.
- ▶ El uso previo de antihelmínticos
- ▶ El historial de parasitosis clínicas

La recolección adecuada de muestras, en procedimiento y número, sumado al traslado en condiciones apropiadas al laboratorio, redundará en una mejor calidad diagnóstica.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuento de huevos (H.p.g.) en heces



Recuento de huevos (H.p.g.) en heces

La demostración de la presencia de huevos en las heces proporciona una evidencia tangible de que el animal se halla infectado con parásitos. El desarrollo de métodos cuantitativos para determinar la abundancia de tales huevos constituyó un importante avance en la estimación indirecta de las cargas parasitarias. Si bien el recuento de huevos no determina con certeza la abundancia de parásitos establecidos en el aparato digestivo, constituye una herramienta de alta valoración técnica y práctica para el control de la enfermedad en los sistemas de producción.

Los recuentos de huevos en materia fecal son también valiosos en trabajos experimentales y “seguimientos de campo” donde, con muestreos seriados o la comparación entre animales de historia clínica conocida, pueden proporcionar información significativa sobre la magnitud de la carga de vermes o sobre los efectos de la respuesta inmunológica de los animales en la población parasitaria. Asimismo, el recuento de huevos constituye una ayuda invaluable en el diagnóstico de las helmintiasis, siempre que se acepte que:

Si bien la presencia de grandes cantidades de huevos en las heces confirma un diagnóstico, los conteos escasos o aún la ausencia total de los mismos, no siempre indican que el animal no padece una helmintiasis.

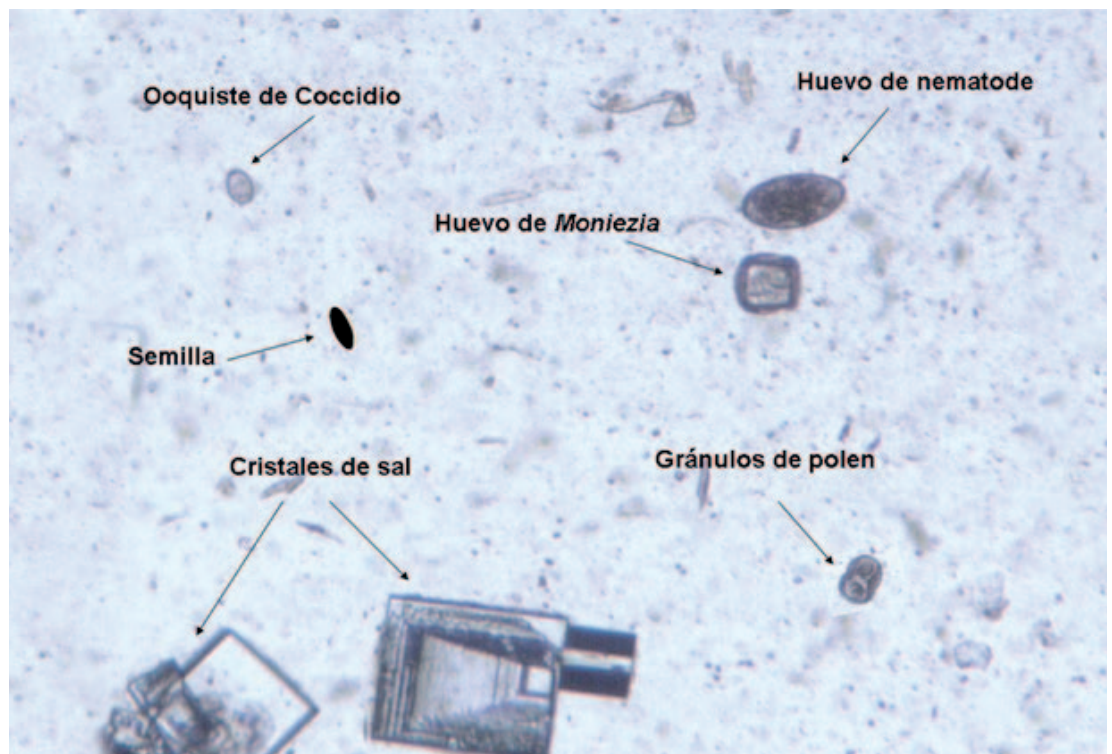
En función de ello, resulta conveniente conocer sus ventajas así como los factores que limitan la confiabilidad y el significado de los recuentos.

► VENTAJAS QUE OFRECEN LOS RECuentOS DE HUEVOS EN HECES:

- Su practicidad y bajo costo.
- La rapidez en la obtención del resultado.
- No han sido reemplazados bajo “condiciones de campo”.
- Son sensibles ante parasitosis mixtas hasta alrededor del primer año de vida de los animales.
- Sugieren el nivel de contaminación y el pronóstico de infectividad de las pasturas si se realizan periódicamente.
- Aunque no permiten establecer la eficacia absoluta de un antiparasitario, si se efectúan entre los 7 y 14 días posteriores a la dosificación, permiten realizar una evaluación primaria de los tratamientos antiparasitarios (eficacia clínica).
- Se complementan perfectamente con el resto de las técnicas parasitológicas, enriqueciendo la información aportada por las mismas.

► FACTORES QUE LIMITAN LA CONFIABILIDAD DE LOS RECuentOS DE HUEVOS EN HECES:

- Si bien se ha demostrado que los conteos de huevos presentan cierta fluctuación diurna, no es esperable que la misma interfiera la interpretación de los resultados en los controles a campo. Sin embargo, en trabajos experimentales dicha variación adquiere tal relevancia que, la comparación de los conteos se realiza sobre muestras recogidas en el mismo momento del día.
- Los huevos no se hallan distribuidos uniformemente en las heces, aunque esta fuente de error no es significativa.
- La cantidad de heces eliminada puede afectar el número de huevos por unidad de peso. Se han propuesto diversas correcciones para compensar el contenido de humedad o la consistencia de las heces, aunque no parecen aportar grandes beneficios. En caso de trabajar con materia fecal de ovinos se debe considerar la consistencia de la misma. Así, los conteos de heces de consistencia blanda deben multiplicarse por 2 y aquellos obtenidos de heces líquidas (diarrea) por 3.
- En ocasiones, en especial si el operador no es muy experimentado, pueden observarse elementos de origen vegetal o animal, denominados pseudoparásitos, que pueden inducir al error.



- Con cierta frecuencia se confunden semillas muy pequeñas totalmente oscuras con huevos de *Trichuris*, cristales de sal con huevos de *Moniezia*, granos de polen con huevos de *Ascaris*, esporas de hongos con ooquistes de *Coccidios*. Finalmente, los huevos de ácaros pueden ser confundidos (a pesar de su mayor tamaño, la ausencia de cámara de aire y su cápsula rugosa) con los de nematodos gastrointestinales. En estos casos, el conocimiento de la morfología y medidas de los huevos u ooquistes contribuye a evitar el error.

► FACTORES QUE LIMITAN LA INTERPRETACIÓN DE LOS RECuentOS DE HUEVOS EN HECES:

-Se ha demostrado una gran variabilidad de los conteos de H.p.g. entre animales de un mismo lote atribuibles a diferente susceptibilidad individual. A punto tal que se considera que menos del 20% de los animales (los más susceptibles) son los responsables del 70 % de la contaminación (aporte de huevos con la materia fecal) de las pasturas. Tales animales, los más susceptibles, contribuyen a “detectar tempranamente” las parasitosis y evitar su efecto. La participación minoritaria de tales animales en el rodeo determina la necesidad de tomar un mayor número de muestras, y es la base de la recomendación de muestrear 10 animales como mínimo (idealmente 20) por lote.

- La resistencia del hospedador puede disminuir o anular totalmente la oviposición en gran parte de los géneros parasitarios.

- La resistencia del hospedador puede dar lugar a una notable prolongación del período prepatente. En ciertos casos puede producirse enfermedad aún sin llegar a hacerse patente.

- Los vermes inmaduros no revelan su presencia a través del recuento de huevos, aún cuando las formas inmaduras de algunos géneros son altamente patógenas.

- Otros fenómenos afectan la relación entre el número de hembras adultas y la cantidad de huevos eliminados, como el de “autorregulación parasitaria”.

- Los huevos de muchas especies de nematodos no se distinguen con facilidad y, por ello, un recuento de huevos se refiere a menudo a la cantidad total de huevos, involucrando especies que difieren ampliamente en su poder patógeno y en su fecundidad. Se han desarrollado varios métodos para determinar la proporción de especies cuyos huevos se consideran indiferenciables. El que se recomienda para uso general se fundamenta en permitir el desarrollo de los huevos (coprocultivo), para realizar posteriormente la identificación de las larvas del tercer estadio (L3), técnicas que serán descritas posteriormente.

La mayor limitación de los conteos de H.p.g. sobreviene cuando se pretende utilizarlos como única herramienta para la detección temprana de las pérdidas productivas subclínicas. En este caso, la utilización de otras técnicas y la efectivización de prácticas de manejo complementarias, así como el conocimiento de la epidemiología parasitaria, resultan esenciales.

► INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA ÚTIL - ANAMNESIS:

- Raza.

- Edad.

- Estado general del rodeo.

- Antecedentes de:

Tipo de explotación (extensión, N° de potreros, carga animal, etc.).

Manejo del rodeo.

Alimentación y tipo de pasturas.

Enfermedades infecciosas, carenciales o parasitarias.

Condiciones climáticas.

Calendario sanitario.

- Fechas de desparasitaciones (en especial la última):

Productos utilizados.

Número de animales desparasitados sobre el total del rodeo.

- Dosis (Cómo se ajustó).

Quién lo administró.

Tiempo que demoró el trabajo.

► TOMA DE MUESTRAS:

- Las heces destinadas al examen parasitológico deben recogerse del recto (salvo que se observe al animal cuando bosteja, en cuyo caso pueden recogerse del suelo evitando incorporar tierra a la muestra). La defecación se estimula a través del reflejo anal introduciendo dos dedos y friccionando la ampolla rectal mediante movimientos circulares.



- Las muestras deben extraerse individualmente, identificarse y remitirse al laboratorio para su análisis. Esto permite apreciar si hay animales con conteos más altos que otros, indicando el comienzo de una infección. Por el contrario, los pooles provocan una merma en la sensibilidad haciendo que los conteos más altos se diluyan en la muestra.

- Debe tenerse cuidado en la elección de los animales a muestrear, debiendo identificarse aquellos con síntomas. Se debe tener en cuenta que los animales con diarrea hacia el final de la enfermedad pueden evidenciar una disminución en los recuentos y enmascarar la verdadera carga parasitaria.

- La cantidad de materia fecal a remitir debe ser de 40-60 gr. dado que los huevos no se hallan distribuidos homogéneamente.

- Las muestras pueden ser remitidas en bolsas de polietileno de 20 x 30 cm, procurando extraer el aire antes de cerrarlas para retardar la maduración y eclosión de los huevos.



- En el mismo sentido, las muestras recogidas en zonas o estaciones calurosas y que tarden más de 4-6 horas en ser procesadas, deben conservarse en cajas de telgopor con refrigerantes. Las muestras de materia fecal no deben congelarse.

- El número de muestras a extraer debe ser representativo del total de animales que pastorean en el potrero o comparten el lote. La capacidad del laboratorio es otra limitante para determinar el número de muestras. La experiencia indica que entre 10-20 muestras por lote da una buena aproximación acerca de lo que ocurre, en especial cuando se trata de muestreos seriados.



Si bien se dispone de varias técnicas para el recuento de huevos en heces, la más utilizada es la:

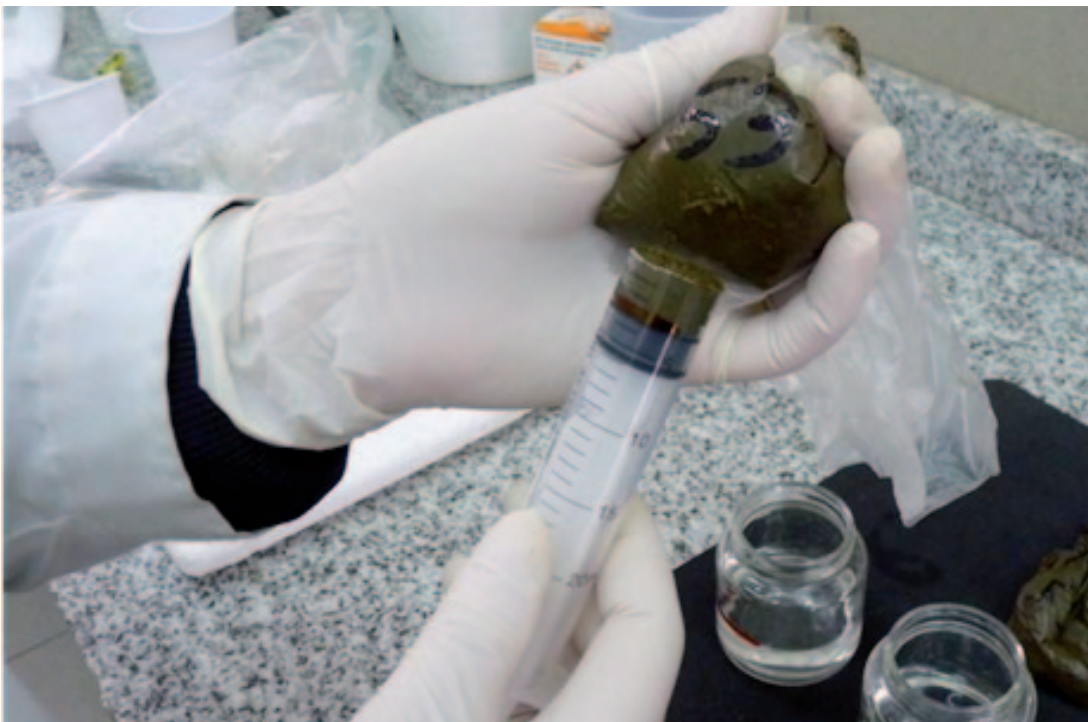
TÉCNICA DE MC MASTER MODIFICADA (ROBERT Y O'SULLIVAN, 1949):

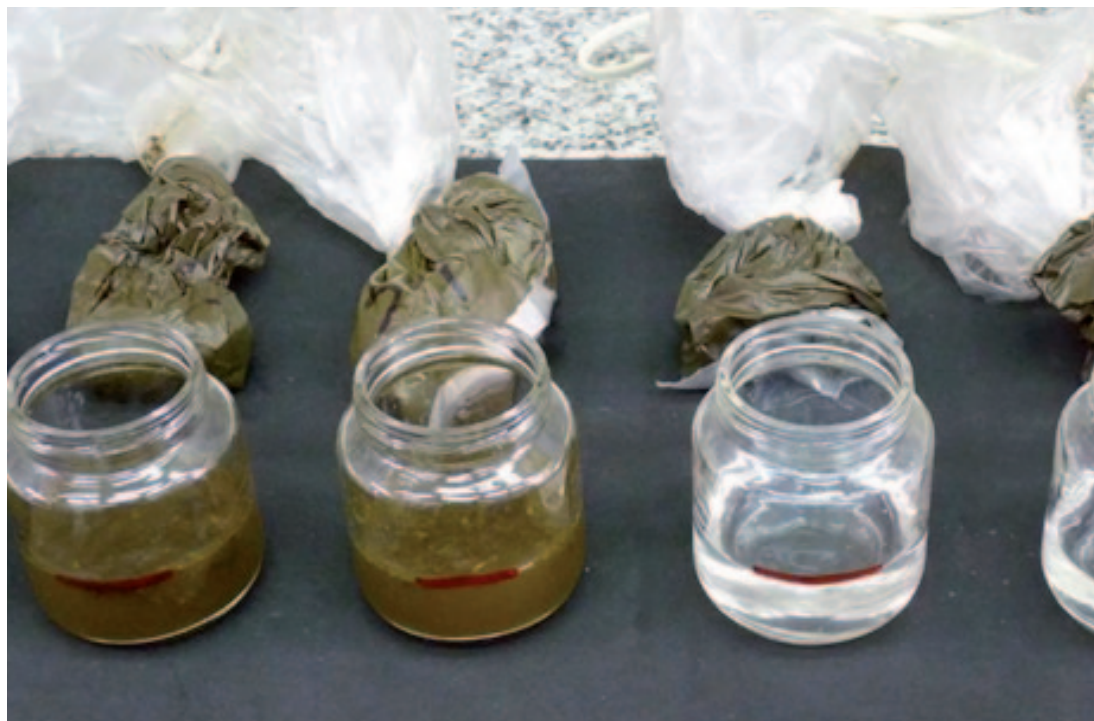
PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN SOBRESATURADA DE CLORURO DE SODIO:
Agregar aproximadamente 400 gr de sal por litro de agua (en lo posible caliente) y agitar vigorosamente hasta lograr la densidad 1.200. Una vez preparada se puede conservar en recipientes cerrados hasta su utilización.

- Verter 57 cm³ de solución sobresaturada de cloruro de sodio en un frasco de vidrio de unos 120-150 cm³ de capacidad y boca ancha.



- Pesar 3 gr de materia fecal (en bovinos 3 gr son comparables a un volumen de 3 cm³) y agregarlos al frasco que contiene la solución.





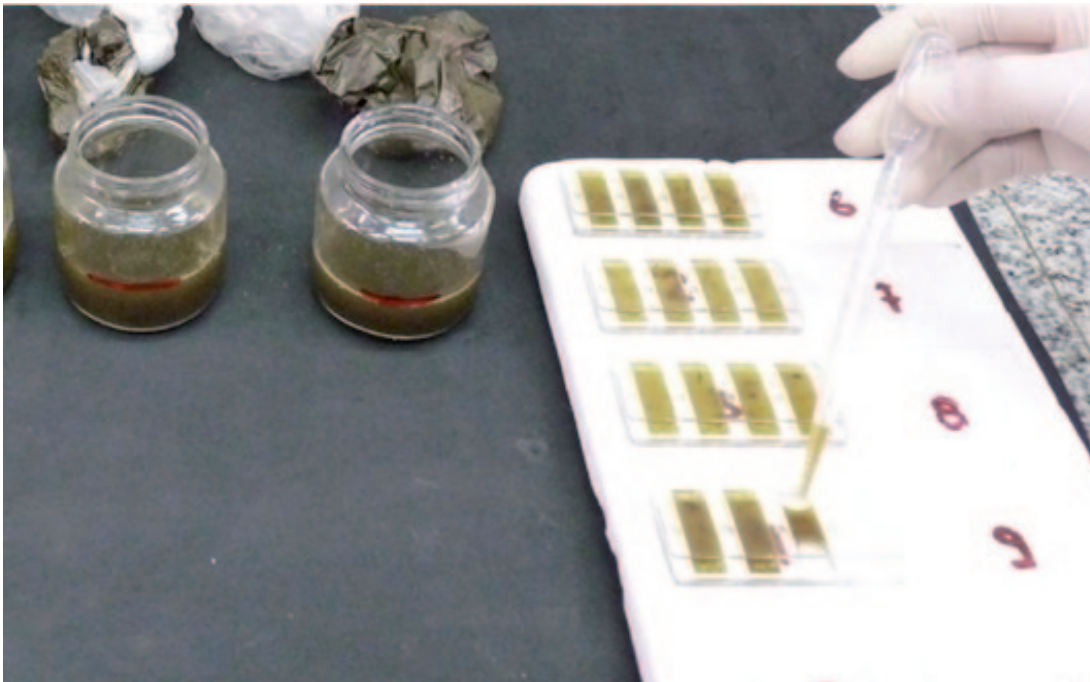
- Mezclar vigorosamente con batidora eléctrica (de cocina) o manualmente con espátula, y lavar los elementos mezcladores entre muestras.



- La cámara de conteo recomendada es la conocida como "Cámara INTA" que tiene 4 retículos (o pile-titas) de 0.5 cm^3 de capacidad cada uno, lo que da un volumen total de 2 cm^3 .

LLENADO DE LA CÁMARA

1. Introducir una pipeta en el frasco de vidrio luego de haber agitado vigorosamente el contenido para permitir la distribución homogénea de huevos (evitando su acumulación en la superficie por efecto de la solución salina), extraer el líquido del nivel medio de la muestra, procurando tomar la cantidad suficiente para completar rápidamente la cámara sin dejar excedente.
2. Completar los 4 retículos de la cámara de Mc Master con la precaución de dejar la mínima cantidad de burbujas de aire. Para ello resulta práctico humedecer la cámara previamente a su llenado.

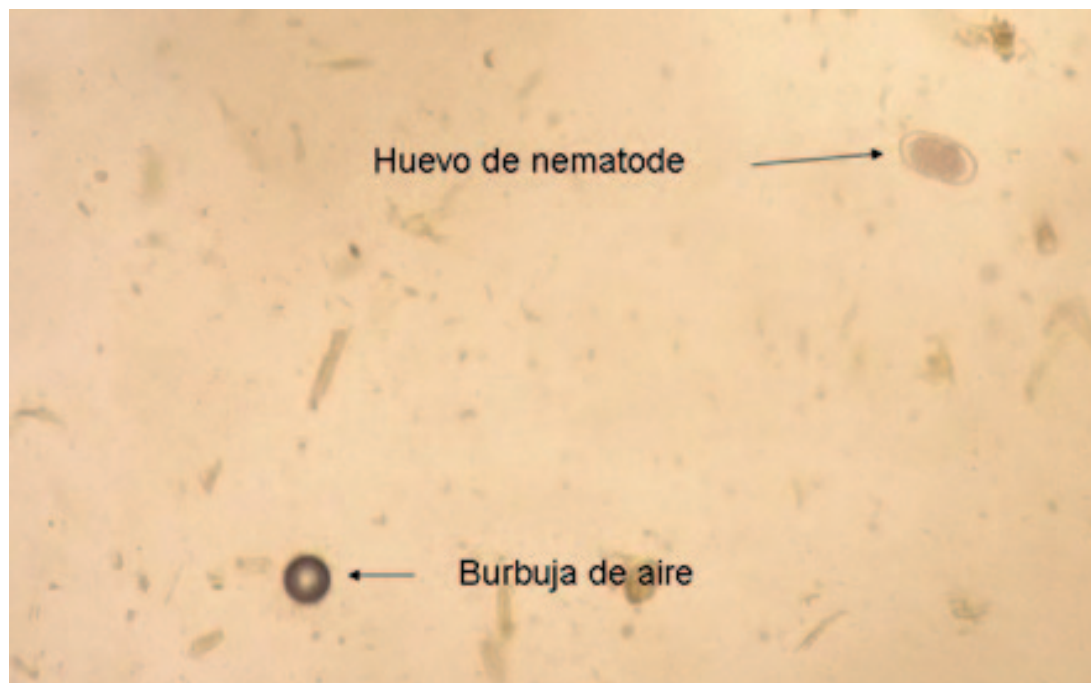


3. Dejar reposar unos minutos y transferir al microscopio para su lectura.



LECTURA Y CÁLCULO

Cabe recordar que la solución salina sobresaturada se utiliza con el objeto de que los huevos de los nematodos, que tienen cámara de aire, floten y puedan ser cuantificados con un mínimo margen de error. Por lo tanto es crucial hacer foco en el plano superficial de la muestra. En términos prácticos, es recomendable enfocar las burbujas de aire (círculos de bordes negros y centro blanco) que, obviamente están en el plano donde, en el caso de ser una muestra positiva, se observarán los huevos de nematodos gastrointestinales.



Contar todos los huevos de nematodes que aparezcan en los 4 retículos y multiplicar por el factor 10 para expresar el resultado en Huevos por gramo (H.p.g.) de materia fecal. El factor surge de la dilución 1/20 que se realiza con la muestra (3 gr de heces en 57 cm³ de sol. sobresaturada de cloruro de sodio), de forma tal que se tiene 0.1 gr de materia fecal en los 2 cm³ de capacidad total que tiene la cámara. En el caso que se utilicen 2 retículos por animal (colocando muestras de 2 animales por cámara) el factor de multiplicación para expresar en H.p.g. es 20.

OBSERVACIONES

- De los huevos de *Moniezia* sólo se informa su presencia, sin realizar el conteo, dado que su aparición es aleatoria.
- Con los ooquistes de coccidios del género *Eimeria* puede optarse por expresarlos por gramo de heces o, dado que en general la presencia de algunos ooquistes en las heces tiene escaso significado clínico, expresarlos cualitativamente con distinta intensidad (por ej. +, ++ o +++). Si se cuantifican, se realiza el conteo de ooquistes individuales y se multiplica por el mismo factor que para huevos de nematodos, expresándose en O.p.g (ooquistes por gramo). Las coccidiosis clínicas se asocian con conteos superiores a los 10.000 O.p.g.
- En caso que la lectura de las muestras se demore por encima de los 30 minutos de la preparación, los conteos pueden declinar marcadamente y producirse alteraciones morfológicas en los huevos. Se recomienda, en consecuencia, la preparación de pocas muestras a la vez.

► PRINCIPALES INDICACIONES DE LOS RECuentOS DE HUEVOS EN HECES:

- Por fuera de la CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA DE CASOS CLÍNICOS en los cuales se sospecha de parasitosis gastrointestinal, el H.p.g. puede ser utilizado ampliamente en:
 - EL CONTROL PARASITARIO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN. Se realiza a través de muestreos periódicos de materia fecal, especialmente en animales de recría, generando así, seguimientos a campo tendientes a evitar las pérdidas productivas ocasionadas por la enfermedad parasitaria. La implementación rutinaria de tales prácticas a través de profesionales veterinarios permite controlar las variaciones epidemiológicas derivadas de aspectos climáticos y de manejo facilitando el uso racional de antihelmínticos y otras formas de control parasitario.
 - TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (TRCH). De todos los métodos que han sido desarrollados para la detección de resistencia antihelmíntica, éste es sin dudas el más simple, económico y práctico, sobre todo para el desarrollo de la actividad profesional a campo. Establecida una disminución de la sensibilidad de las poblaciones parasitarias a través del T.R.C.H., el test de eficacia controlada (T.E.C.) permitirá establecer, mediante el conteo de especímenes a la necropsia, cual es el grado de resistencia antihelmíntica (Ver capítulo 10). Puede ser utilizado en rumiantes, equinos y porcinos, con todo tipo de antihelmínticos, y con todas las especies de nematodos cuyos huevos sean eliminados con la materia fecal y puedan ser cuantificados.
 - El recuento de huevos en heces puede proporcionar una ESTIMACIÓN PRELIMINAR DE LA EFICACIA ANTIHELMÍNTICA (eficacia clínica) ante infecciones naturales a través de la comparación de los conteos de huevos por gramo (H.p.g.) de materia fecal en animales antes y después del tratamiento antihelmíntico.

► INTERPRETACIÓN DE LOS RECuentOS DE H.P.G. EN HECES:

- En terneros al pie de la madre es frecuente observar conteos altos (por encima de los 600 H.p.g.), sin que necesariamente ello esté indicando alteraciones en la productividad de los animales. En esta categoría de animales, inmunológicamente inmaduros, los parásitos hembras manifiestan todo su potencial de postura, de manera que pocos parásitos pueden dar lugar a altos conteos de H.p.g., sin que ello constituya necesariamente un indicador de interferencias productivas.

- Aunque se mantiene una prolongada controversia, se puede aceptar que los conteos de H.p.g. se correlacionan razonablemente (en el orden del 70-75%) con la población de parásitos adultos durante el período que va del destete hasta que los animales superan el año de vida. Pasado este límite, y dependiendo estrechamente de las condiciones nutricionales y del nivel de exposición a los parásitos, el desarrollo de la respuesta inmune comienza a afectar seriamente la oviposición y los conteos a perder confiabilidad y correlación (cayendo a niveles del 40%). En esta situación los conteos de H.p.g. dejan de ser una herramienta de utilidad para detectar las parasitosis subclínicas, aunque un conteo alto marca, inequívocamente, que los parásitos están afectando seriamente al animal, provocando importantes pérdidas productivas.

- En cuanto a la distribución y el resultado de los conteos se pueden establecer algunos parámetros:

- *No es posible determinar un valor por sobre el cual se deba recomendar el tratamiento antiparasitario. En otros términos, no se puede establecer un conteo que indique fehacientemente que se está afectando la producción. No se presentan demasiadas dudas con los conteos de H.p.g. altos (por encima de los 300-400), pero existe una zona gris donde la interrelación climática-nutricional-fisiológico-inmunitaria, produce importantes variaciones de los conteos que dificultan su interpretación.*

- *Aunque, la distribución de los conteos en estos casos puede aportar información de utilidad, específicamente si, sobre la totalidad de las muestras, se presentan algunos conteos individuales altos podría estar indicando que la parasitosis está progresando y es manifestada por los individuos más susceptibles (como ya fue dicho), o bien, que algunos animales no fueron desparasitados. En el último caso, cuanto más cercano sea el análisis al tratamiento, mejor información se obtendrá. Así, se observarán algunos conteos altos (por encima de los 200) entre los negativos o muy bajos (0 a 60). Mientras que, si el problema radica en la aplicación del tratamiento antihelmíntico, la mayoría de los animales tendrán conteos y éstos serán similares. En tal caso, los resultados del coprocultivo ayudarán a establecer lo ocurrido.*

- Las vacas en el periparto pueden presentar algún conteo que difícilmente supere los 100 H.p.g.

- En cambio los toros con frecuencia presentan H.p.g. importantes, aunque algo inferiores a los de las categorías de recria e internada. La mayor susceptibilidad de esta categoría estaría condicionada por sus hormonas sexuales.

- Cada género parasitario tiene sus características de patogenicidad y sus hembras oviponen en cantidad diferente, así vemos:

| GÉNERO PARASITARIO | POSTURA DE HUEVOS DIARIA POR HEMBRA |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| Haemonchus | 5.000-10.000. |
| Ostertagia y Trichostrongylus | 100-200. |
| Cooperia | 500-1000. |
| Oesophagostomum y Chabertia | 3000-5000. |
| Nematodirus | 50-100. |

Por lo tanto, debemos conocer la proporción relativa de cada género, que se logra a través del coprocultivo y la identificación de larvas infectivas. De manera que, conociendo la postura y la patogenicidad de cada uno de ellos, se podrá realizar una interpretación más confiable del diagnóstico de laboratorio.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuento de huevos (H.p.g.) en heces



Cultivo y recuperación de larvas infectivas (L3) de nematodes gastrointestinales

Como consecuencia de las diferencias en la fecundidad y en el efecto patogénico que hicieramos referencia anteriormente, el valor de los recuentos de huevos como herramienta de diagnóstico aumenta significativamente si se complementan con el cultivo de los mismos para conocer los géneros predominantes en la infección. Las semejanzas en el tamaño y morfología de los huevos de las diferentes especies de nematodes gastrointestinales son tales, que su diferenciación es extremadamente difícil. Sin embargo, las larvas de tercer estadio obtenidas a partir de los coprocultivos presentan características y rasgos morfológicos individuales, haciendo que un operador experimentado las pueda diferenciar por género y en algunos casos también por especie.

Todas las técnicas de coprocultivo se basan en los mismos principios, esto es, promover la maduración y eclosión de los huevos, y la evolución de las larvas hasta el tercer estadio (L3 infectante). El éxito del cultivo depende de tres factores: humedad, temperatura adecuada y oxigenación.

Las heces para cultivar no deben estar demasiado secas por lo que deben humedecerse, si hace falta, con agua sin restos de cloro; las demasiado húmedas o diarreicas deben primero consolidarse con el agregado de absorbentes, por ej. materia fecal secada en horno y luego molida. Finalmente, se agrega un elemento inerte para permitir la oxigenación del material cultivado, por ej. telgopor granulado, vermiculita, etc.

Si bien existen diversas técnicas para el cultivo de heces, se describirá una de ellas elegida por su practicidad.

TÉCNICA DE HENRIKSEN Y KORSHOLM (1983):

► EQUIPO

- Vasos plásticos descartables de aproximadamente 200 cm³ de capacidad.
- Gasa común.
- Telgopor granulado.
- Agua a 30°C, libre de cloro.
- Solución yodurada (yodo metálico 2 gr, yoduro de potasio 4 gr, agua 100 ml).
- Hiposulfito de sodio al 20%.
- Embudo plástico (o vidrio) con prolongación de goma y pinza obturadora, o vaso cónico.



► MÉTODO

- Si se procesaron varias muestras para el recuento de H.p.g., es conveniente conformar un pool tomando 2-3 gr de cada una de las muestras que resultaron con conteos.

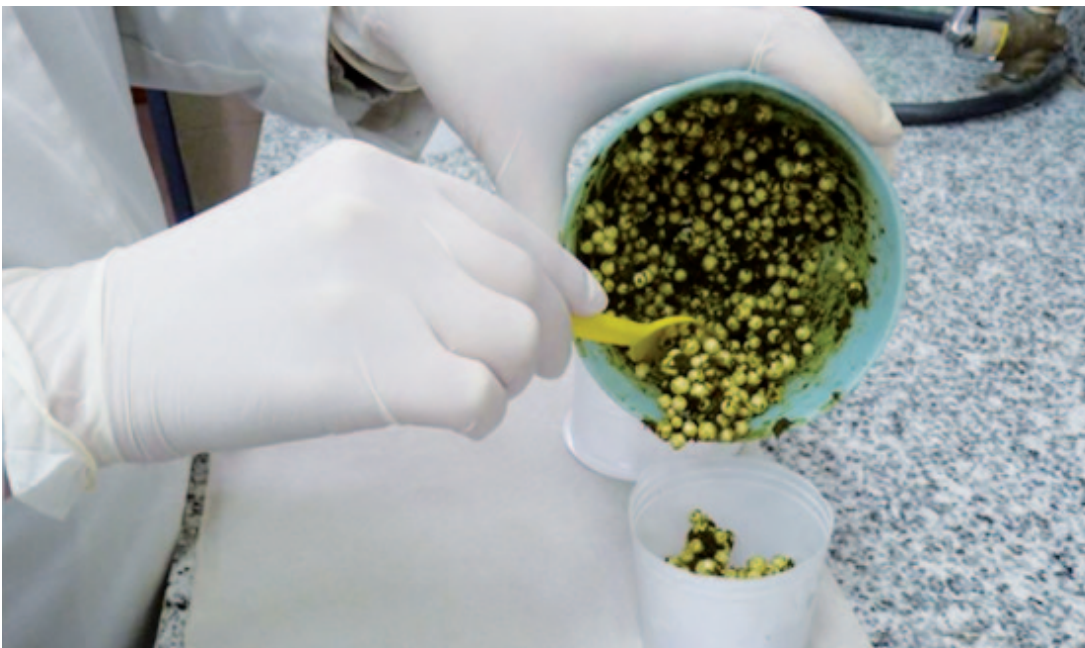
- Colocar el pool de materia fecal en un recipiente, corregir la humedad si hace falta y agregar telgopor granulado mezclando hasta lograr una consistencia poco pastosa (desmenuzada).



- Cortar el vaso plástico a la mitad siguiendo su circunferencia. La mitad inferior (A) es la que alojará las heces a cultivar. Identificar la muestra en la cara externa del fondo de la misma y luego realizar pequeñas perforaciones con una aguja.



- Colocar la muestra (heces mezcladas con telgopor) en (A) y sobre la misma extender una gasa de 5 cm de lado. Luego, acoplar invertida la otra mitad del vaso (B) sobre (A) tratando que la gasa quede firme y sujete el material a cultivar.





- Finalmente, introducir (A+B) en otro vaso (C) con agua en su parte inferior (0.5 cm) para aportar humedad, cuidando que no se moje la gasa.



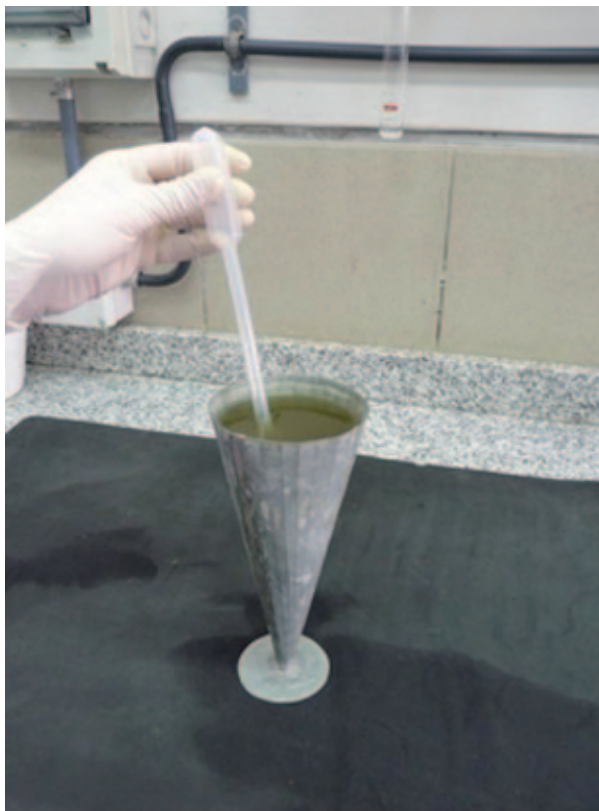
- Incubar el cultivo durante unos 15 días a 20-22° C, evitando que pierda humedad. Si esto ocurre, agregar unas gotas de agua sin cloro.



- Finalizada la incubación, retirar el vaso (C), transferir el cultivo (A+B) a un vaso cónico y sumergirlo en agua tibia libre de cloro. Dejar decantar a temperatura ambiente 12-24 h.



- Para recuperar las larvas infectantes, concentradas en el fondo del vaso cónico, tomar con una pipeta 3-4 ml y conservarlos, sin agregados químicos, en un tubo pequeño hasta su lectura.



- Transferir una pequeña alícuota a un portaobjetos y agregar 1-2 gotas de solución yodurada. Llevar al microscopio para su lectura.

- Identificar 100 L3 por cultivo y aplicar los porcentajes obtenidos a los conteos de huevos por gramo (H.p.g.) de materia fecal.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Identificación de larvas infectivas (L3) de nematodos gastrointestinales

3



Identificación de larvas infectivas (L3) de nematodos gastrointestinales

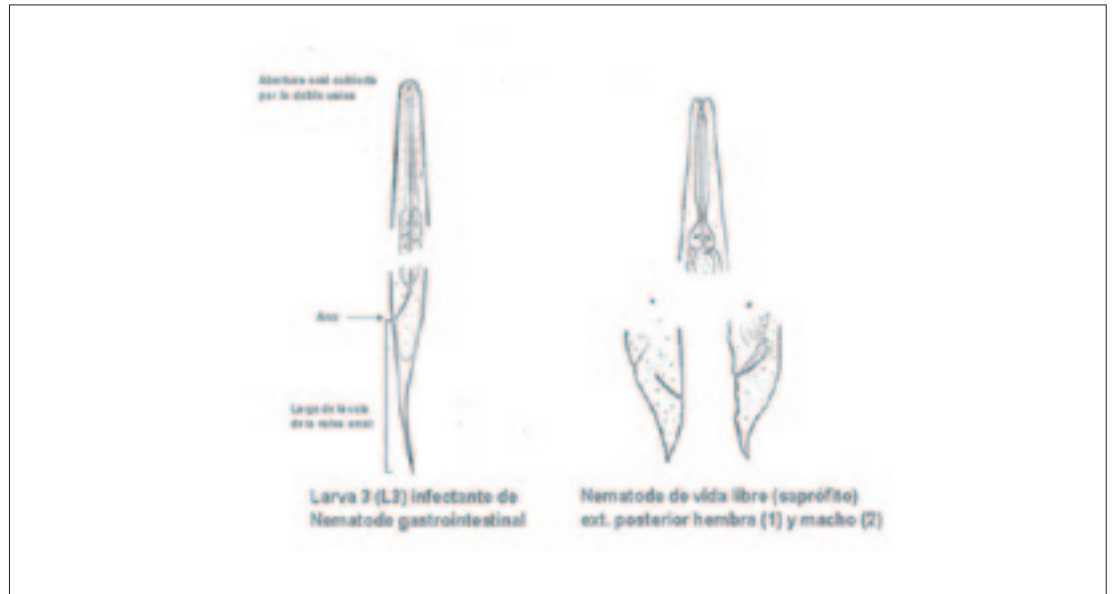
El conocimiento del espectro de nematodos que componen la infección al momento de extraer la muestra de materia fecal a través del coprocultivo, aumenta el valor de diagnóstico de los recuentos de huevos. Sin embargo, la complementación entre el recuento de huevos en materia fecal y el coprocultivo adquirió un valor superlativo a partir del advenimiento de la resistencia a los antihelmínticos. En este sentido, el diagnóstico clínico de resistencia a los antihelmínticos debe estar invariablemente acompañado por la identificación de los géneros sobrevivientes al tratamiento. Esta información es imprescindible para establecer la gravedad del caso, su pronóstico y las medidas de manejo a seguir.

Dado que aquí solo se describirán algunas características generales que permiten diferenciar los distintos géneros parasitarios, para una lectura completa sobre el tema nos permitimos recomendar el minucioso trabajo del Dr. Román Niec: "Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino". INTA, Manual técnico N°3, 1968, del cual han sido extraídos, y en algunos casos modificados, gran parte de los conceptos vertidos a continuación.

► ALGUNAS OBSERVACIONES DE CARÁCTER PRÁCTICO:

- La diferenciación con los nematodos del suelo o larvas de vida libre, se puede realizar por su morfología y mediante tinción y decoloración. Desde el punto de vista morfológico, éstas son de aspecto tosco, muchas veces más grandes que las L3 de parásitos gastrointestinales, y cuando son pequeñas tienen aspecto de "habano". Con frecuencia presentan un ano prominente en cercanía de la parte media del cuerpo. Tienen el esófago rabadiforme, y suele observarse una estructura similar a una "flor de lis" en el extremo posterior del mismo. La extremidad caudal es muy variable en cuanto a forma, con diferente longitud de su filamento o ausencia del mismo, en este caso el extremo posterior tiende a ser curvo formando un semicírculo. Las larvas de vida libre se alimentan permanentemente, por lo que, a diferencia de las L3, no es posible evidenciar en ellas cúmulos en forma de gránulos.

Pero la diferencia esencial con las L3 está dada en que los nematodos de vida libre no poseen doble vaina, y su boca se abre al exterior. Por ello es que, al agregarles unas gotas de solución yodurada, se tiñen fuertemente de color rojo-parduzco, en tanto que las L3 permanecen de color rojizo tenue. Si luego de unos 20 minutos se adicionan unas gotas de hiposulfito de sodio, las larvas de nematodos del suelo se decolorarán totalmente en tanto que las L3 permanecerán coloreadas.



- Para el examen y clasificación de larvas infectantes, es conveniente iniciar la observación con menor aumento (40 X). De este modo se aprecia mejor el aspecto general de las larvas, y lo más importante, la proporción entre el largo total y el largo de la cola de la vaina larval, que permite realizar una clasificación primaria (ver Clave de identificación de larvas infectantes).

- Una vez ubicada dentro de uno de los tres grupos (cola corta, mediana o larga), se examina con mayor aumento para observar:

Forma de la extremidad anterior

Existencia de cavidad bucal

Forma de la misma

Cantidad de células intestinales

Terminación de la cola larval

Largo y forma de la cola de la vaina larval

- El proceso de fijación de las larvas permite observar los detalles morfológicos, y puede ser realizado por calor o agregando unas gotas de solución yodurada.

Para fijarlas por calor, pasar cuidadosamente el portaobjeto que contiene la muestra sobre la llama. Las larvas mueren con su cuerpo estirado, lo que facilita las mediciones, en cambio su estructura puede verse alterada por la elevada temperatura.

Mediante el agregado de sol. yodurada, las larvas quedan curvadas. Sin embargo, la coloración de contraste que toman, facilita la observación de detalles morfológicos.

- Las larvas infectantes que se recuperan del pasto son, por lo general, de mayor tamaño que las cultivadas en laboratorio. Probablemente este fenómeno se deba a la selección natural. En otros términos es factible que, en condiciones naturales, sobrevivan solamente las larvas más robustas y resistentes.

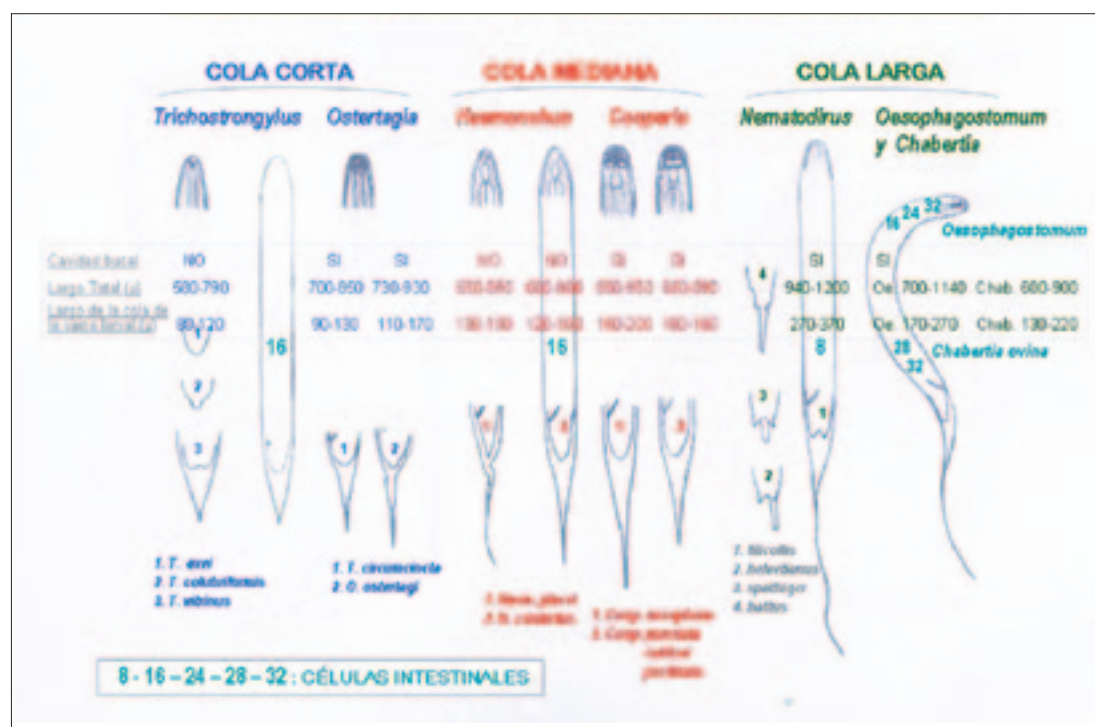
Si bien es cierto que, muchos de los métodos de clasificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales se basan en las mediciones totales y parciales de sus partes, el Dr. R. Niec propone como más didáctica una clave-guía basada en los métodos de Wertejuk y de Corticelli y Lai. La misma tiene en cuenta principalmente el largo de la cola de la vaina larval. De acuerdo a ello se conforman tres grupos principales de larvas:

Cola de la vaina larval corta: *Trichostrongylus* y *Ostertagia*.

Cola de la vaina larval mediana: *Haemonchus* y *Cooperia*.

Cola de la vaina larval larga: *Nematodirus* y *Oesophagostomum*.

CLAVE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS INFECTANTES DE NEMATODES GASTROINTESTINALES DE BOVINOS Y OVINOS (Modificado de Niec, R, 1968)



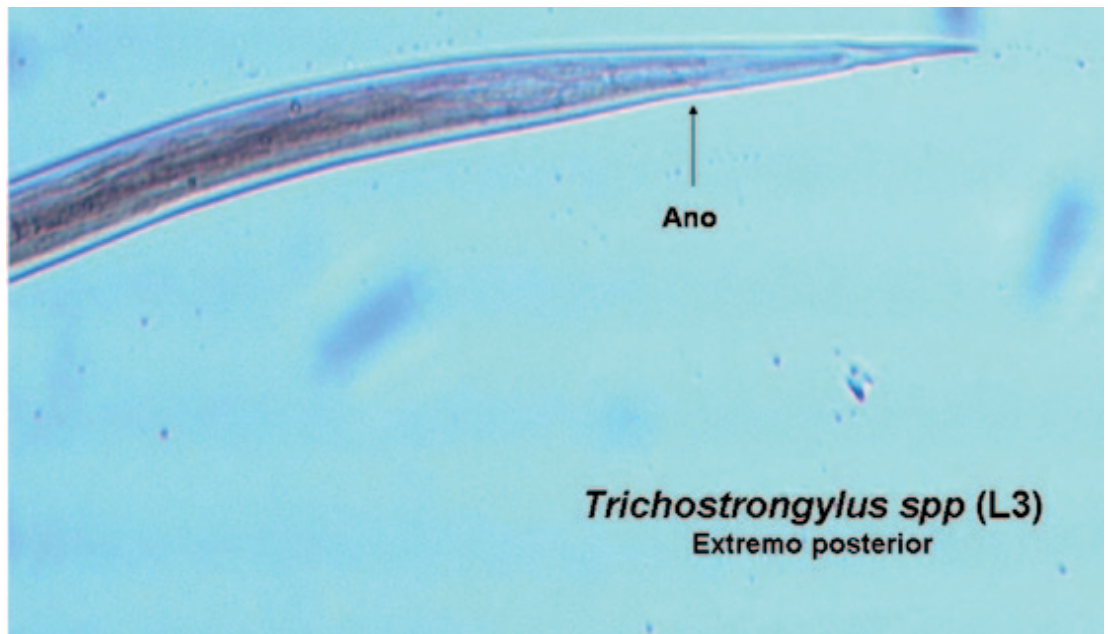
Dentro de cada grupo de larvas es posible diferenciar los géneros en base a ciertos DETALLES MORFOLÓGICOS:

LARVAS DE COLA CORTA (GÉNEROS *TRICHOSTRONGYLUS* Y *OSTERTAGIA*)

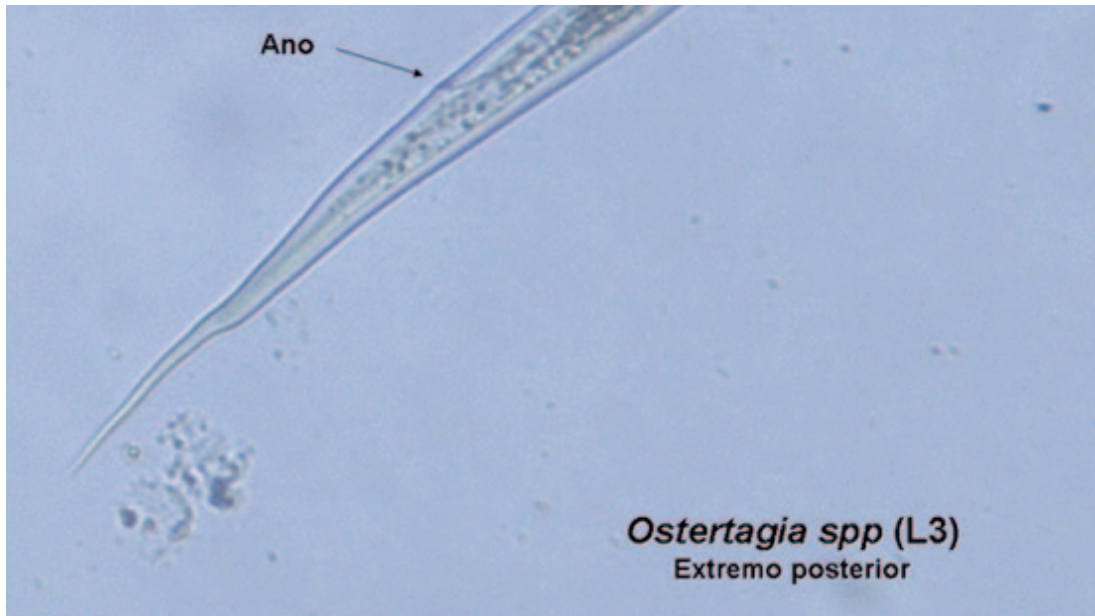
En general las larvas de *Trichostrongylus* son marcadamente más cortas y de ancho proporcionalmente mayor que las de *Ostertagia*.



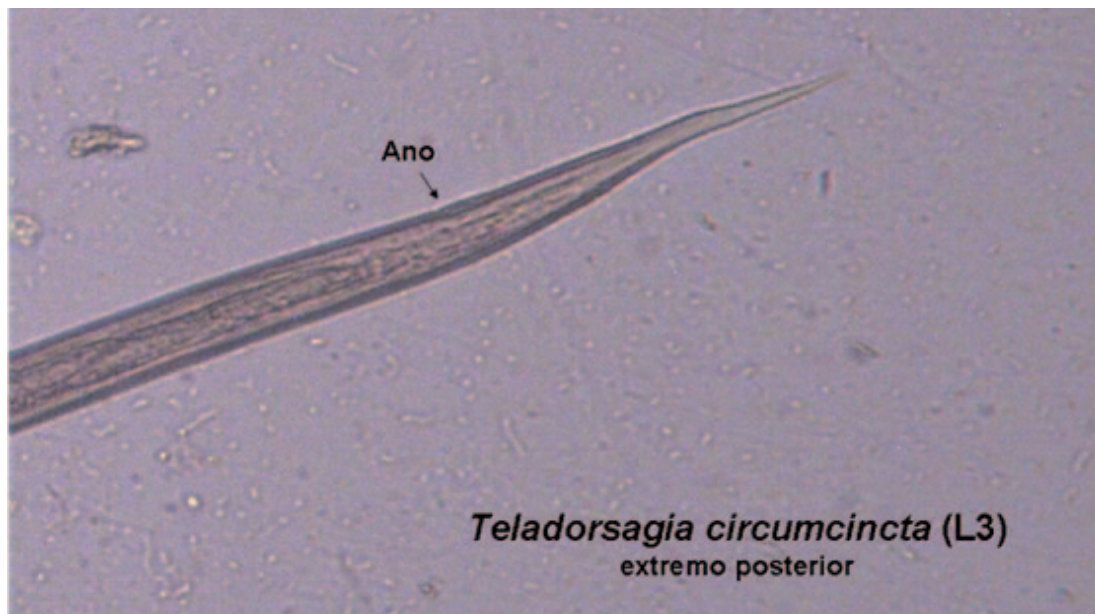
Los dos géneros tienen 16 células intestinales.
La terminación de la cola de la vaina de *Trichostrongylus* es más corta y cónica



En cambio la cola de *Ostertagia* es más filiforme en la mayoría de los casos, y suele presentar una característica desviación a la altura de la punta de la cola de la larva propiamente dicha.

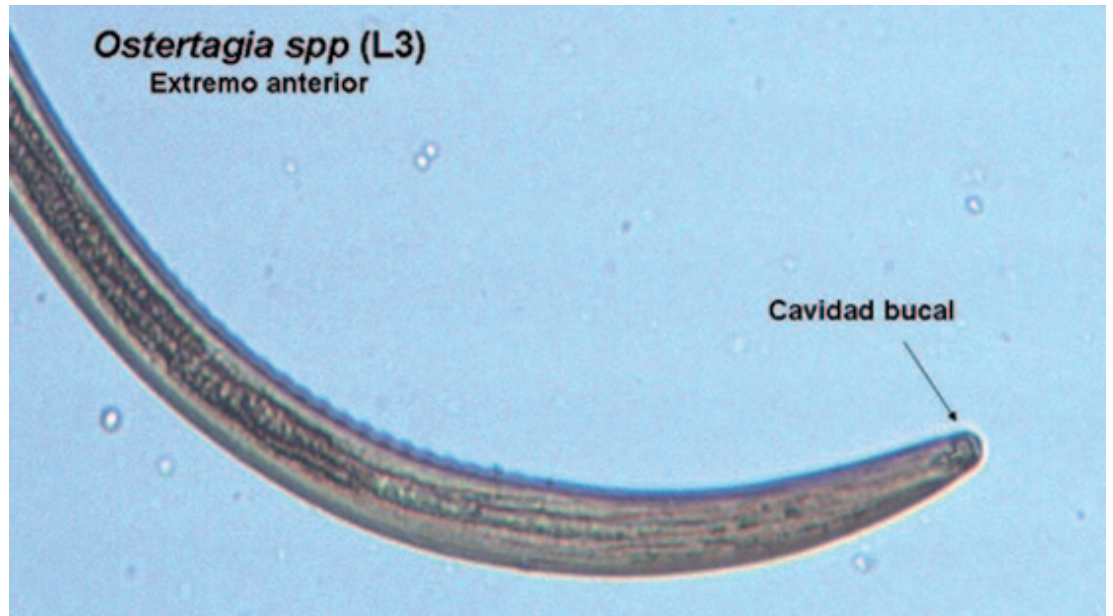


Por su parte, *Teladorsagia circumcincta* presenta una cola de tamaño menor similar a la *T. axei*.

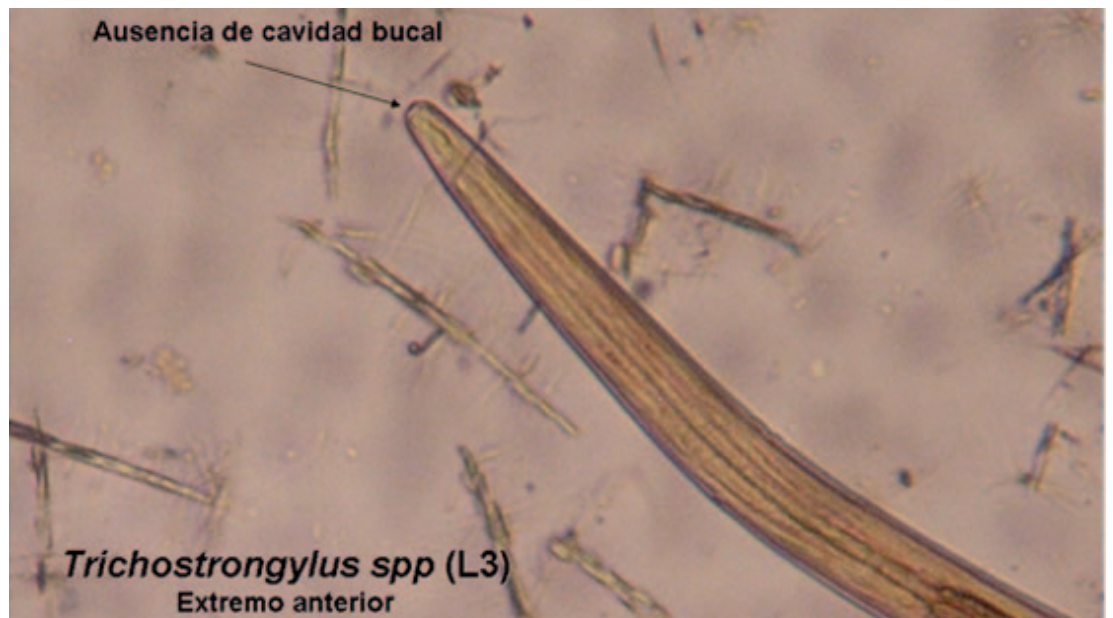


El largo de la cola de la vaina larval del *Trichostrongylus colubriformis* generalmente no llega a los 100 micrones (85-105 μ), la de *Trichostrongylus axei* es levemente más larga y mide entre 80-120 μ ; y la de *Ostertagia ostertagi* oscila entre 110-170 μ .

La terminación de la cola de la propia larva, nos permite diferenciar las especies dentro de aquellos géneros. Otra de las características remarcables es que, las larvas de *Ostertagia* poseen cavidad bucal, lo que le da un aspecto cuadrangular al extremo anterior.



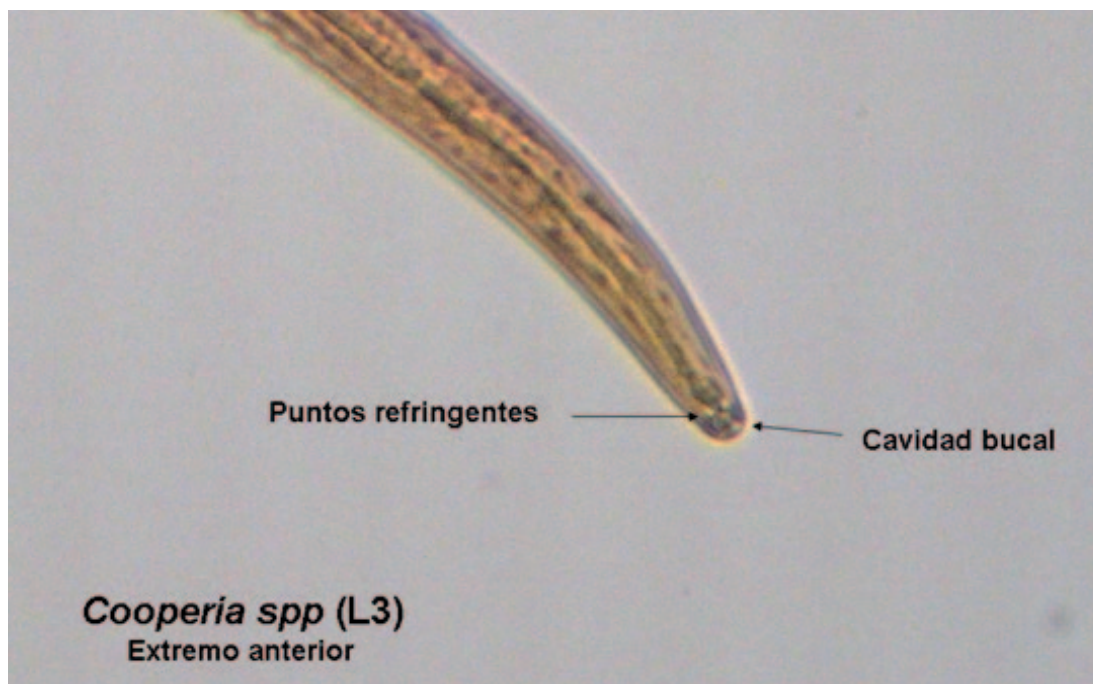
En cambio la extremidad anterior del género *Trichostrongylus* es muy simple sin cavidad bucal, afinándose gradualmente hacia adelante.



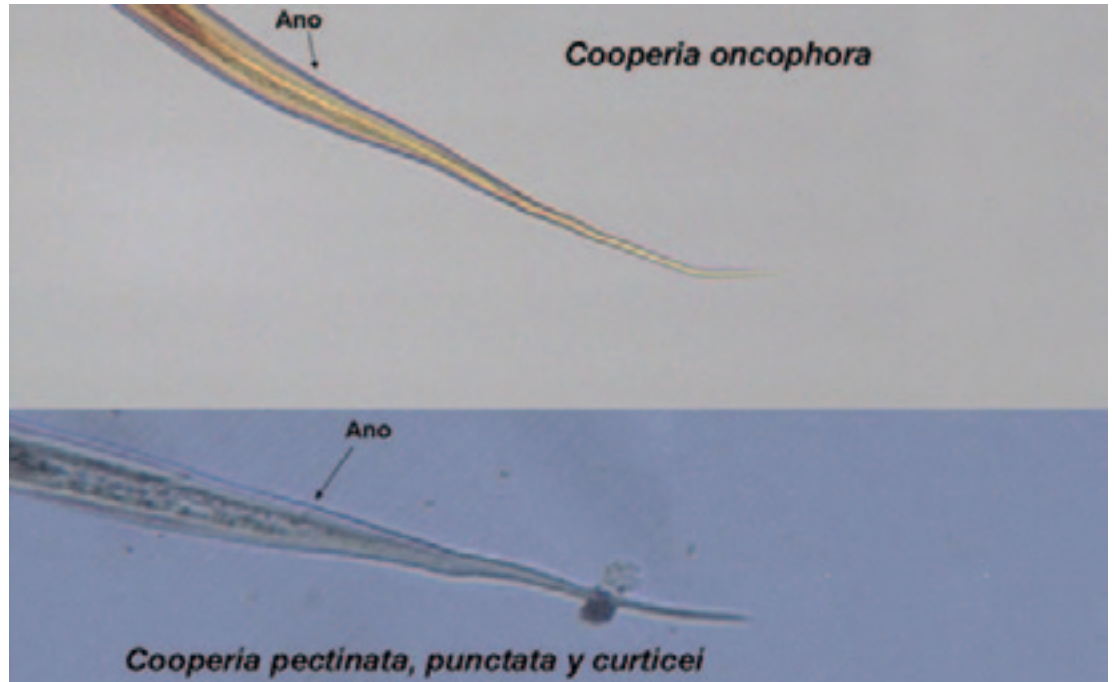
LARVAS DE COLA MEDIANA (GÉNEROS *COOPERIA* Y *HAEMONCHUS*)

Ambos géneros tienen dieciséis células intestinales.

Las larvas de *Cooperia* son generalmente más grandes que las de *Haemonchus*. Las larvas de *Cooperia* en el lugar donde termina la cavidad bucal (que le da aspecto cuadrangular) y comienza la faringe, presentan una cinta fibrinosa que se ve como dos puntos o una línea refringente.



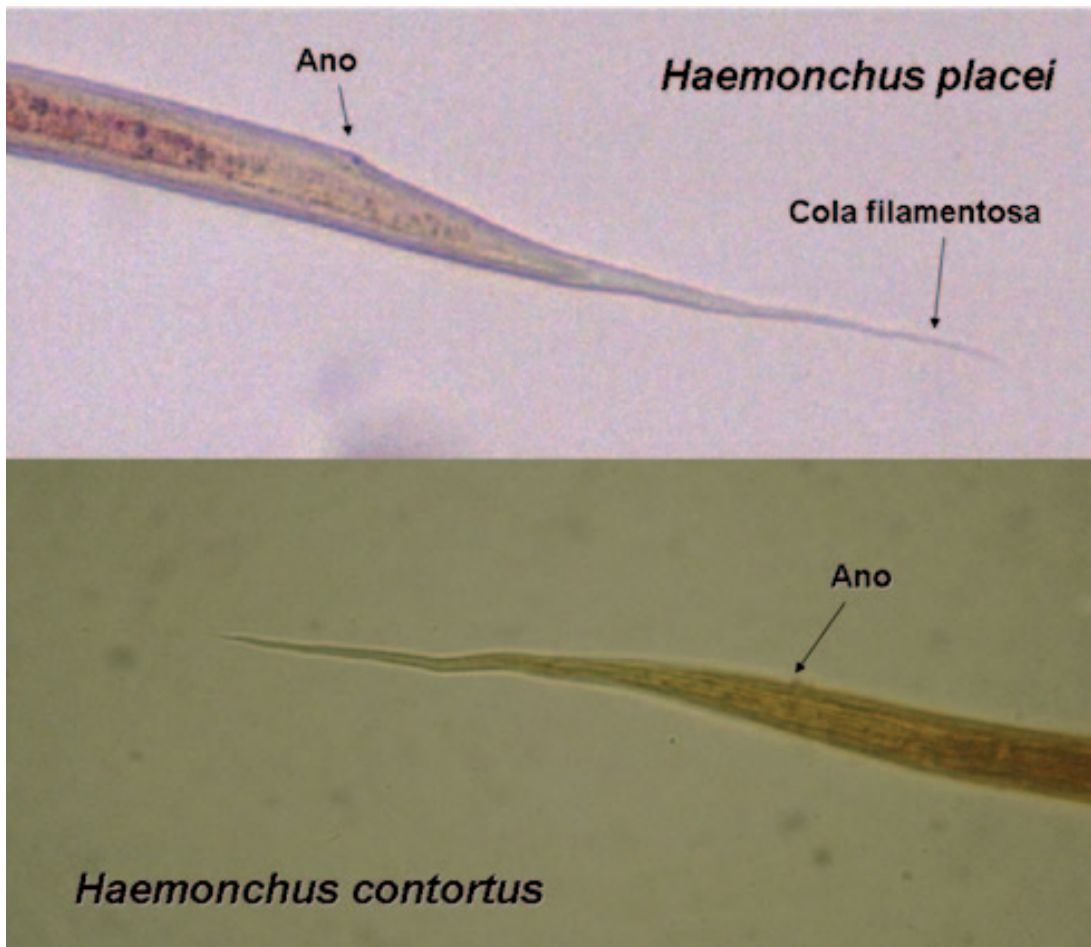
No todas las especies del género *Cooperia* son diferenciables entre sí. Las L3 de *C. oncophora* son las más robustas del género (miden 850-950 μ). La terminación de la cola de la vaina larval (largo de 150-200 μ), por lo general ligeramente ondulada, se reduce gradualmente en una terminación obtusa. Las restantes especies del género son más pequeñas (680-890 μ), muestran colas de vainas larvales más cortas (136-180 μ) y terminan en punta aguda. Estas *Cooperias* "de cola algo más corta" (*pectinata*, *punctata*, *curticei*) suelen confundirse con larvas de *Ostertagia*, por lo que debe prestarse especial atención a la presencia de refringencia por debajo de la cavidad bucal.



Las L3 de *Haemonchus placei* son esbeltas y de longitud media (650-890 μ), sin cavidad bucal (termina afinándose hacia delante). La cola es latiguiforme y su terminación, filamentososa (largo de la cola de la vaina larval 140-190 μ). En su extremo anterior no se observan cuerpos refringentes, lo que facilita la diferenciación con *Cooperia*.



En cambio las L3 de *Haemonchus contortus* son algo más pequeñas, y presentan una terminación más corta (120-160 μ) y menos filamentosa, asemejándose más al género *Ostertagia*.



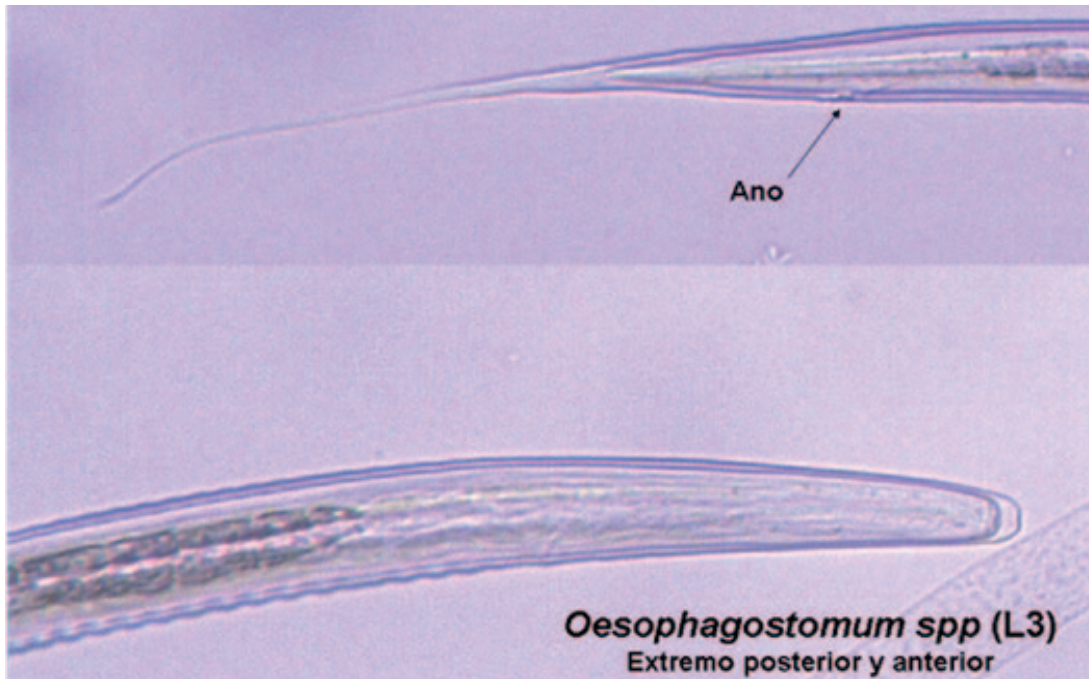
LARVAS DE COLA LARGA (GÉNEROS OESOPHAGOSTOMUM Y NEMATODITRUS)

Las larvas de *Nematodirus* son las más grandes de todas las que parasitan al bovino (940-1200 μ). La larva infectante desarrolla dentro del huevo, y no eclosiona en los coprocultivos sino ante determinados estímulos; pero al ser el único huevo perfectamente distinguible al H.p.g., se lo expresa directamente en porcentajes. Sí resulta necesaria la identificación de estas larvas en los lavados de pasto. La cavidad bucal tiene forma de tubo recto y el intestino está compuesto por 8 grandes células. La cola de la vaina larval es larga (259-370 μ) en forma de látigo



Las larvas de *Oesophagostomum radiatum* (la única L3 de cola larga obtenida en coprocultivos) son más cortas (700-860 μ), muestran una envoltura gruesa y ondulada, son bastante anchas y al fijarlas toman un aspecto curvado que semeja la letra C. Tienen entre 16-32 células intestinales y la cola de la vaina larval mide 210-270 μ .





Las larvas 3 de *Chabertia ovina* son relativamente más pequeñas (600-900 μ) y generalmente poseen 32 células intestinales. Aquellas larvas que miden entre 700-800 μ no pueden ser diferenciadas de las de *Oesophagostomum*.

► INTERPRETACIÓN DE LOS COPROCULTIVOS:

- Debe tenerse en cuenta que el diferente potencial biótico de los géneros parasitarios se expresa a través de la capacidad de postura de huevos de las hembras. De este modo, aquellos géneros con menor capacidad de resistencia a las condiciones ambientales adversas, deberán eliminar mayor cantidad de huevos para sortear los inconvenientes y asegurar la continuidad de la especie. En consecuencia, el potencial de oviposición termina siendo un parámetro de lo avanzado que se encuentra cada género parasitario en el proceso evolutivo de adaptación a las condiciones (manejo-ambientales) de cada zona. En lo referido a los parásitos gastrointestinales, los extremos podrían marcarse entre los géneros *Nematodirus*, que elimina 50-100 huevos por día y alcanza el estadio de L3 dentro del huevo, constituyéndose en el género de mayor resistencia y persistencia en el medio ambiente; y el género *Haemonchus* con 5.000-10.000 huevos diarios, que necesita condiciones acotadas de temperatura y humedad para evolucionar, y que muere fácilmente con condiciones extremas de temperatura y sequedad.

- Claro está que lo expresado no siempre tiene su correlato en la fase parasitaria, y en general hay cierta tendencia al equilibrio. Continuando con el mismo ejemplo, en los bovinos la inmunidad frente al género

Nematodirus se desarrolla más tempranamente (5-6 meses de vida) que contra *Haemonchus* (luego del año de vida).

- Lo cierto es que, a pesar de “la participación equilibrada” de cada género parasitario, los muestreos parasitológicos se realizan en condiciones determinadas, que establecen resultados puntuales, y que el conocer tales variables redundará en una mejor calidad diagnóstica.

- De hecho, debemos tener claro que el resultado del coprocultivo no establecerá la real participación relativa de cada género en la carga parasitaria total. Los diferentes niveles de postura conducirán a que los géneros “más ponedores” puedan relativizar la participación en los recuentos de huevos de aquellos con menor oviposición. Esta situación es tan clara que recién en la última década del siglo 20 fue posible determinar la participación de los géneros *Haemonchus* y *Cooperia* en el NEA argentino. A través del estudio de cargas parasitarias a la necropsia, se pudo establecer que *Cooperia* predomina sobre *Haemonchus*, revirtiendo la información de los estudios de los '70 realizados en base a coprocultivos.

- Esta situación es especialmente atendible cuando se realizan trabajos de Resistencia a los antihelmínticos basados en el TRCH y donde, como ya se mencionó, el coprocultivo es medular. En tales circunstancias debe prestarse especial atención a lo expresado, teniendo en claro que los géneros *Haemonchus*, *Oesophagostomum* y *Cooperia* prevalecerán en los coprocultivos por sobre *Ostertagia*, *Trichostrongylus* y *Nematodirus*. De tal forma que, en un cultivo mixto, la sola presencia de géneros “pocos ponedores” debería ser tomada en cuenta, pasando a un segundo plano la distribución porcentual de los mismos.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuperación de larvas de nematodos del pulmón (*técnica de Baermann*)

4



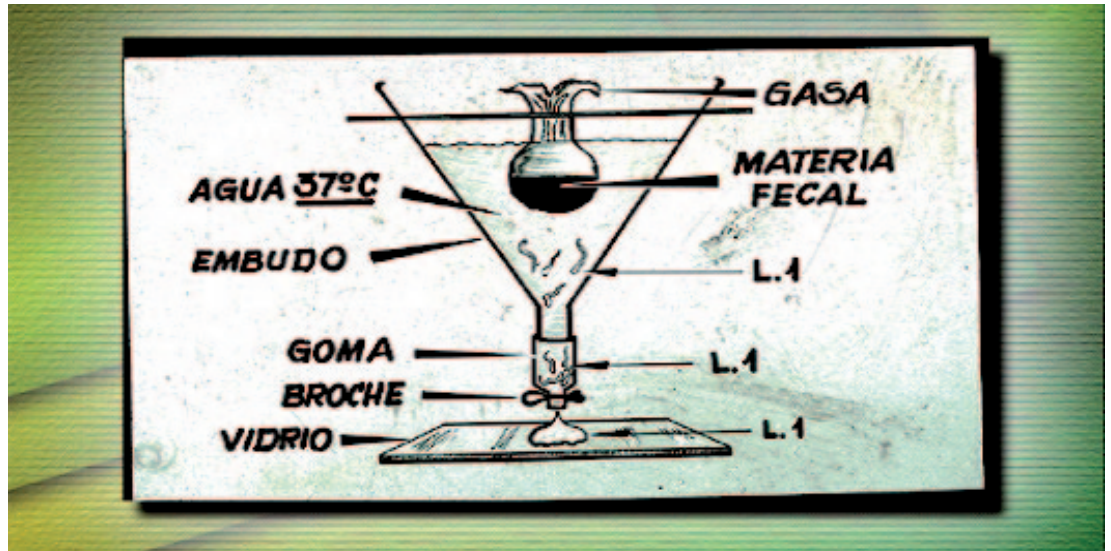
Recuperación de larvas de nematodos del pulmón (*técnica de Baermann*)

► EQUIPO

- Embudo de plástico, vidrio o metal de aproximadamente 10 cm de diámetro.
- Tubo de ensayo.
- Manguera de látex o goma, acoplada en un extremo al embudo y en el otro al tubo de ensayo.
- Soporte o gradilla para mantener el embudo en posición vertical.
- Gasa e hilo de algodón.
- Cámara para conteo de larvas (la misma que para coprocultivos).
- Solución acuosa de azul de metileno al 2%.

► MÉTODO

- Ubicar los embudos con sus correspondientes mangueras en la gradilla
- Poner un broche en la manguera o insertar en la parte inferior un tubo de ensayo.
- Poner unos 20 gr de materia fecal sobre una pieza doble de gasa, de forma cuadrada de 10-12 cm de lado. Atar las puntas de la gasa con el hilo de tal manera de formar una bolsita que contenga la materia fecal.
- Introducir la bolsita en el embudo sujetándola con el cabo del hilo al embudo o la gradilla.
- Llenar el embudo con agua a 3°C hasta cubrir la muestra y dejar en reposo 18-24 h.
- Para la lectura de la muestra, abrir la pinza y dejar caer unas gotas en un portaobjeto, o bien desconectar el tubo de ensayo, sifonar la parte superior del líquido (2/3) y tomar la muestra del fondo del tubo con una pipeta.
- Agregar 2 gotas de azul de metileno y observar al microscopio. Las larvas 1 (L1) de Dictyocaulus toman un color azul violáceo.



► CARACTERÍSTICAS DE LAS LARVAS (FOTOS)

Las larvas 1 de *Dictyocaulus viviparus* son más cortas que las L3 de parásitos gastrointestinales, no tienen doble vaina y presentan la cola muy corta y roma. Asimismo, poseen un granulado muy característico en sus células intestinales. Previamente a la tinción con azul de metileno, se puede observar su movimiento, que es muy lento y ondulante. Las larvas de *Dictyocaulus filaria*, especie que afecta a los ovinos, presentan además un botón cefálico característico.





► INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE LA BRONQUITIS VERMINOSA

- La dictyocaulosis es una enfermedad que afecta a los bovinos entre los 5-10 meses de vida en terneros durante la crianza en tambos y durante el otoño e invierno en animales de recría en sistemas de producción de carne. Posteriormente, se desarrolla una sólida inmunidad debido al fuerte estímulo que generan las larvas durante la muda a L4 en los ganglios linfáticos en su migración hacia los pulmones.
- El ciclo parasitario de *Dictyocaulus* dura una semana más que el de los nematodos gastrointestinales con quienes usualmente resultan concomitantes, y las infecciones masivas ocurren ocasionalmente, ya que las larvas infectivas en las pasturas tienen poca movilidad. Por estas razones, es relativamente difícil en la práctica el hallazgo de un cuadro clínico puro de dictyocaulosis.
- En tales condiciones, es probable que se diagnostique primero la gastroenteritis verminosa. Si a esto se le agrega que para el tratamiento se emplean los mismos principios activos, las ocasiones de diagnóstico se reducen notablemente.
- Con frecuencia se asocia la presentación de tos y laringitis “a frigore” con bronquitis verminosa. En tal caso, el hallazgo de L1 de *Dictyocaulus* a través del método descrito inclinará el diagnóstico hacia la verminosis. Sin embargo, en la etapa de penetración (con tos ocasional) o de prepatencia (con tos sostenida y aumento de la frecuencia cardíaca) de la enfermedad, pueden aparecer falsos negativos, debido a la imposibilidad de detectar L1 en la muestra de materia fecal.
- Por otro lado, se han observado algunos cuadros de “dictyocaulosis puras” en sistemas intensivos de recría de vaquillonas de tambo donde, a pesar de la casi nula disponibilidad forrajera, el hacinamiento y el “ramoneo” (incluso con incorporación de tierra) predisponen la ingestión de larvas infectantes.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Determinación de la infectividad de las praderas

5

Determinación de
la infectividad de
las praderas



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Determinación de la infectividad de las praderas

La determinación de la concentración de larvas infectivas (L3) de nematodos en los pastos brinda una indicación de la infección a la que se hallan expuestos los animales. Claro está que éste es un dato puntual y está condicionado por un gran número de variables, entre las que se destacan: el período del año, las condiciones climáticas, en especial las lluvias y en menor medida el momento del día en que se recogen las muestras. Aún así es un dato complementario de interés, que en caso de tener varias pasturas muestreadas en un período de pocas horas, nos permite elegir aquellas con menor infección parasitaria. En el caso de “Seguimientos” (con muestreos a intervalos quincenales o mensuales) a través del tiempo, permite trazar patrones de infectividad e interrelacionarlos con el manejo de los animales y el clima.

► EQUIPO

- Bolsas de polietileno de 45x40 cm.
- Tijera o cuchillo (serrucho) de tamaño mediano.
- Balanza de regular precisión (2-3 kg de capacidad).
- Baldes plásticos de 15-20 lt de capacidad, o lavarropas a turbina.
- Detergente no iónico.
- Embudo para Baermann.
- Colador de cocina de unos 15 cm de diámetro.
- Tamiz de 37 μ de abertura entre hilos (400 meshes).
- Servilletas de papel.
- Solución yodurada.
- Cámara de conteo (idem identificación de L3).
- Bandeja de fondo cribado (malla colador) para secar el pasto.

► RECOLECCIÓN DE PASTO:

- Si el campo es parejo se considera al potrero como una unidad, pero si es desperejo —ej lomas y bajos— se debe dividir en sectores de acuerdo a la topografía.
- Si el potrero es extenso, se aconseja muestrear en los lugares donde los animales pastorean más activamente.
- El horario de muestreo debe ser similar para todos los potreros, se aconseja hacerlo por la mañana antes que salga el sol, dado que a esa hora la mayoría de las larvas se encuentran en las hojas y tallos del forraje. Debido a su fototropismo negativo, a medida que avanza el día las larvas descienden, tanto que en horas del mediodía, alcanzan casi el nivel del suelo.
- Trazar “rutas” en forma de N, W o X en el área de muestreo. La distribución de larvas en los pastos es muy irregular, por ello se deben recoger muchas muestras de sitios diferentes.
- Detenerse unas 100 veces y cortar el pasto a ras del piso, tomando 3-4 submuestras en cada detención. El lugar de muestreo debe estar unos 10-20 cm por fuera de la deposición fecal.



- Introducir los manojos de pasto sin movimientos bruscos en la bolsa de polietileno, hasta completar una muestra que no exceda los 800 gr.



► LAVADO DEL PASTO

- Agregar agua tibia (libre de cloro) al balde hasta sus 3/4 partes, junto con 2-3 gotas de detergente no iónico. Introducir el pasto y 1-2 enjuagues de la bolsa para liberar las larvas adheridas a la misma.
- Dejar sumergido el pasto durante 4-6 h, sacudiéndolo regularmente para facilitar el desprendimiento de las larvas. Cumplido el tiempo, traspasar el pasto en porciones a otro balde, cuidando que no caiga líquido afuera, para repetir la misma operación.
- Concluido el tiempo del segundo lavado, sacar el pasto con cuidado, escurrirlo y depositarlo en una bandeja para su secado en estufa o en condiciones de ambiente. Recién cuando el mismo adquiere una consistencia similar al fardo seco, se procede a pesarlo.
- El proceso de lavado consume un día, sin embargo se puede optimizar utilizando un lavarropas a turbina, donde el lavado puede recogerse a través de la manguera de desagote en unos 20 minutos.







► FILTRADO DEL LAVADO

- Filtrar el agua de los 2 baldes o del lavarropas por 2 tamices superpuestos: un colador común de cocina que retiene las partículas más groseras, e inmediatamente por debajo de éste, el tamiz de 37μ de abertura entre hilos (400 meshes) donde quedan retenidas las larvas.



- Si la muestra tiene mucho sedimento, se puede recoger todo el tamizado con un chorro suave de agua aplicado desde abajo del tamiz y verterlo en un recipiente. Luego de 3-4 h extraer lentamente (para no arrastrar larvas) el sobrenadante con una manguerita fina. Queda de esta forma, un líquido con gran cantidad de partículas y algo de tierra, desde el cual deben recuperarse las larvas.



► RECUPERACIÓN DE LAS LARVAS

- Colocar una malla metálica o plástica en la parte superior de los embudos de Baermann y extender sobre la misma una servilleta de papel abarcando toda la parte superior del embudo.
- Derramar lentamente todo el filtrado sobre la servilleta, evitando que ésta se rompa y deje de retener la suciedad. Una vez terminado el proceso, enjuagar el frasco que contenía el filtrado y volcar el enjuague sobre la servilleta. Si el líquido que queda en el embudo no alcanza a cubrir la servilleta, agregar agua tibia sin cloro hasta formar una pequeña película sobre la misma.



- A las 24 h sólo las larvas habrán atravesado la servilleta y estarán decantadas en la parte inferior del tubo de ensayo.

- Eliminar el sobrenadante y extraer del fondo las larvas para ser leídas en la cámara (idem identificación de larvas obtenidas de coprocultivos).

► LECTURA DE LA MUESTRA

- Agregar 1-2 gotas de solución yodurada al líquido recuperado y dejar reposar 20-30 minutos. Inmediatamente antes de proceder a la lectura, agregar 1-2 gotas de hiposulfito de sodio. Así, las larvas de vida libre, que no poseen doble vaina, se decoloran inmediatamente, en tanto que las de parásitos gastrointestinales permanecen de color marrón-rojizo.

- Finalmente, contar e identificar las larvas del filtrado. La infectividad de las pasturas se expresa como: número de larvas por kg de pasto seco (para que el cálculo no sea influenciado por la humedad propia del pasto).

CÁLCULO

$$\text{L3 / k. pasto seco} = \frac{\text{Nº de larvas contadas}}{\text{Peso del pasto seco en gr}} \times 1000$$



► INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Se estima que esta técnica recoge un 40% de las larvas presentes en la hierba.
- A través de esta técnica es posible establecer el riesgo al que están expuestos los animales. Para expresarlo de otra manera, el dato obtenido permite estimar la cantidad de larvas que podrían ingerir los animales en los días posteriores al muestreo, lo que la convierte en la herramienta de diagnóstico más precoz de la gastroenteritis verminosa.
- Sin embargo, debe dejarse bien claro que, se trata de un dato puntual que es influenciado por un gran número de variables, entre las que se destacan las precipitaciones pluviales (en especial), el tipo de forraje, el período del año, etc. Por lo tanto su utilidad y confiabilidad será mayor cuanto mayor sea la información complementaria que se disponga, especialmente la provista por otras técnicas diagnósticas como el H.p.g. En otras palabras, sería temerario pretender controlar eficientemente las verminosis solo con la determinación de la infectividad de las praderas.
- Todas las pasturas permanentes (naturales o implantadas) están infectadas por parásitos en mayor o menor grado. Es oportuno destacar que, del total de la población parasitaria, el 90% se encuentra bajo la forma de estadios de vida libre en la materia fecal y en el forraje.
- El número L3 en los pastos aumenta luego de las precipitaciones. En invierno, lluvias débiles y escasas son suficientes para provocar la traslación de larvas hacia el forraje. En verano son necesarias precipitaciones más abundantes para romper la costra superficial de las bostas.
- En otoño, niveles relativamente bajos de infectividad pueden ser riesgosos debido, por un lado a la alta susceptibilidad de la categoría de recría, y por otro a que estos animales reinfectarán las pasturas “forjando” un serio problema para el invierno.
- Como consecuencia, durante el período invernal se observa la más alta carga parasitaria en las pasturas, complicando el cuadro la escasa disponibilidad forrajera que obliga a los animales a comer más cerca de las deposiciones fecales, donde encuentra la mayor concentración de larvas infectantes.
- A partir de la primavera, el crecimiento forrajero “diluye” la infectividad, y la técnica pierde sensibilidad (especialmente hacia fines de primavera-verano) para detectar niveles de infectividad que puedan interferir con la producción de carne. Por otro lado, debe considerarse que en este período una alta proporción de las larvas infectivas del género *Ostertagia* inhiben su desarrollo en el hospedador (Hipobiosis) hasta principios de verano, no representando riesgo productivo mientras estén en tal estado.
- Durante el verano, como consecuencia de las altas temperaturas y la desecación, se produce una gran mortandad de las larvas infectivas que se hallan en el forraje, pero tal efecto se ejerce en menor medida sobre aquellas larvas que se hallan protegidas dentro de las deposiciones fecales. De forma que, para producir una disminución importante de las “poblaciones en refugio”, es más conveniente un verano caluroso y lluvioso que un verano tórrido. En el primer caso, las lluvias producen el arrastre de larvas desde la deposición hacia el pasto y las altas temperaturas ejercen su efecto. En tanto que en la situación de seca, no se ejerce acción sobre las poblaciones “refugiadas” en la materia fecal. Debe destacarse que el citado efecto sobre las larvas en el pasto es mucho menor en veranos húmedos y “frescos”.
- En ocasiones, especialmente cuando los potreros tienen cierto tiempo sin animales y los conteos de larvas en pasto son relativamente bajos, el muestro de algunas “bostas viejas” puede brindar informa-

ción adicional de utilidad. Realizando un Baermann de dichas muestras se puede constatar la presencia de larvas infectivas dentro de la deposición fecal, que estarían en condiciones de trasladarse hacia el forraje con las primeras lluvias importantes.

- La intensificación de los sistemas productivos, al favorecer la coincidencia huésped-parásito, genera un aumento del riesgo parasitario. Un claro ejemplo de ello son los pastoreos rotativos intensivos donde, luego del pastoreo, el crecimiento rápido del forraje actúa protegiendo a las larvas infectantes que son arrastradas por las lluvias, luego de su maduración, desde la deposición fecal. La cobertura de forraje genera un microclima que posibilita la mayor supervivencia de dichos estadios de vida libre.

- En un trabajo donde se evaluó la técnica aquí recomendada y otra operativamente más dificultosa, no se comprobaron diferencias en el número de larvas recuperadas en diferentes horarios de muestreo. Sin embargo, los muestreos realizados durante la mañana y la caída de la tarde resultaron algo más eficientes que los del mediodía en cualquiera de las estaciones del año. Por otro lado, si bien la técnica detecta aceptablemente las variaciones estacionales en la infectividad de las praderas, evidencia una importante variación de los datos en cada muestreo que obliga a ser muy cuidadoso con la interpretación de los resultados.

- En definitiva, un alto conteo de larvas en la pastura no ofrece dificultad para su interpretación. Pero, un conteo bajo no indica de ninguna manera que ese sea el estado real de la carga parasitaria del potrero. En este caso un nuevo muestreo realizado poco después de las lluvias ofrecerá un dato más cercano a la realidad.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuento e identificación de parásitos adultos en el aparato digestivo

6

Recuento e
identificación
de parásitos adultos



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Recuento e identificación de parásitos adultos en el aparato digestivo

Por las razones expuestas anteriormente, los recuentos de huevos en heces no son siempre una indicación certera de la carga de vermes. Si es factible, conviene determinar directamente la carga de parásitos en el tubo digestivo. La necropsia y procesamiento en el laboratorio o a campo de animales parasitados, brindará información precisa, no solo del tipo y número de parásitos presentes, sino también del estado de desarrollo de la población parasitaria.

La necropsia puede revelar alteraciones morfológicas asociadas a las parasitosis, como edemas en tejido subcutáneo, ascitis, linfonódulos mesentéricos agrandados y edematosos, gastritis con edemas de pliegues, enteritis catarral, etc. que contribuyen significativamente al diagnóstico.

► TÉCNICA DE NECROPSIA Y TOMA DE MUESTRAS

Sobre un animal sacrificado es conveniente medir el pH del contenido abomasal como indicador de la funcionalidad de dicho órgano. El pH normal oscila en 1.5-3, en tanto que en animales muy parasitados éste se eleva por encima de 5.



Una vez abierta la cavidad abdominal, realizar dos ligaduras en el cuajo, una a la altura del píloro y otra a unos 3 cm de la anterior, al comienzo del duodeno. Separarlo del resto del aparato digestivo junto al librillo (para evitar derrames de contenido) y cortando entre las dos ligaduras, con el mismo fin. Separar el intestino delgado del mesenterio, con cuchillo filoso, hasta llegar a la válvula ileocecal. Realizar el mismo procedimiento con el intestino grueso, descartando la última parte correspondiente al recto.



► EQUIPO

- Balde de 12-15 l graduado (en su lateral con divisiones de 10 en 10 equivalentes al volumen del cucharón).
- Cucharón de capacidad conocida (B).
- Tamiz de 75 μ de abertura entre hilos (200 meshes)
- Abridor de intestino (o tijera punta roma).
- Bandejas grandes (de aproximadamente 40 x 50 cm de lado).
- Placas de Petri.
- Solución yodurada.
- Hiposulfito de sodio.

► MÉTODO

- Abrir el abomaso por la curvatura menor y volcar el contenido en el balde. Lavar intensamente la mucosa (pliegue por pliegue) bajo un chorro de agua suave, friccionando cuidadosamente con los dedos para separar los vermes adheridos.



- Enrasar el contenido del balde agregando agua hasta la medida indicada inmediatamente por encima del nivel del líquido acumulado durante el lavado.
- Homogeneizar el contenido con el cucharón y extraer tantas medidas (cucharones) como sea necesario para completar una alícuota del 10% del total del lavado.



- Trasvasar la alícuota a un recipiente plástico (preferentemente de 1 l de capacidad). En caso de no leer la muestra en el momento, se la puede conservar en heladera, previo formolado al 4% (como conservador).
- Abrir el intestino delgado con un enterótomo o con tijera, lavar la mucosa de manera similar a la del cuajar, y tomar la muestra de igual forma para completar una alícuota del 10%.



- Realizar el mismo procedimiento con el intestino grueso.
- Para la lectura de la muestra, tomar un 10% (cucharones) de la alícuota original y volcarlo sobre el tamiz de 75 μ de abertura entre hilos (200 meshes). Con una fina lluvia de agua, limpiar y clarificar la muestra.
- Volcar el lavado en una placa de Petri y agregar unas gotas de solución yodurada.
- Pasados 5-10 minutos, decolorar con hiposulfito de sodio.
- Mirar la muestra en una lupa estereoscópica a 10-20X y pasar los parásitos, con la ayuda de una aguja histológica, a otra placa de Petri con agua para su recuento e identificación.

FACTOR DE MULTIPLICACIÓN:

Según las diluciones sugeridas en esta guía (pueden hacerse más o menos), el número de parásitos obtenidos debe ser multiplicado por 100. Este valor surge de multiplicar los dos porcentajes o alícuotas del 10% que se utilizaron.

► OBSERVACIONES DE CARÁCTER PRÁCTICO QUE CONTRIBUYEN A LA IDENTIFICACIÓN DE LOS GÉNEROS PARASITARIOS

Si bien para realizar una correcta identificación de los vermes debemos tener en cuenta una serie de parámetros, tales como largo el verme, el aspecto macro y microscópico, la características del extremo anterior, la bolsa copulatriz (y sus componentes) en el macho, la vulva de la hembra, etc, existen algunas particularidades que caracterizan a los diferentes géneros, y que pueden contribuir a su clasificación:

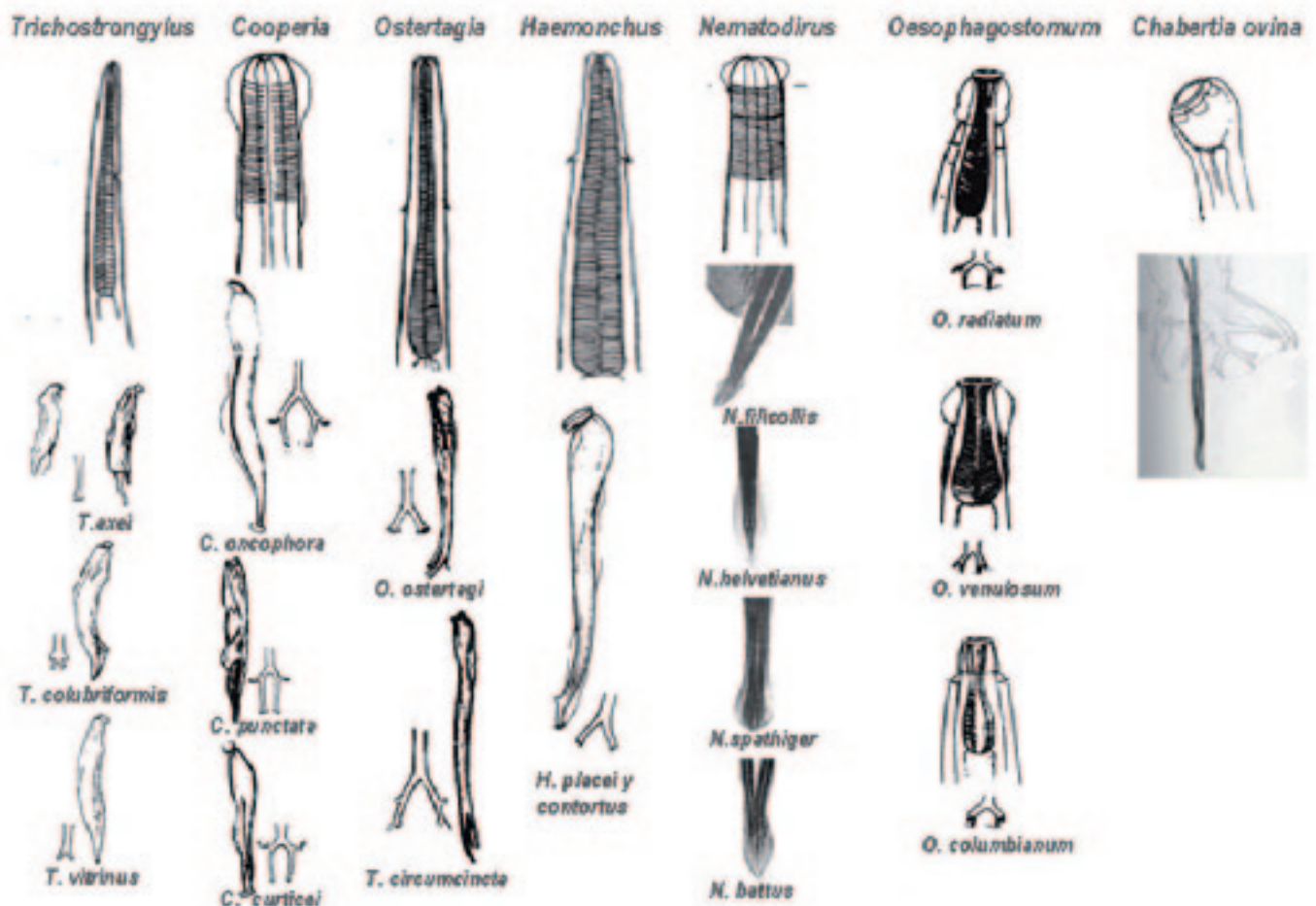
NEMATODES GASTROINTESTINALES DE LOS BOVINOS

| NOMBRE | UBICACIÓN | TAMAÑO (mm) | EFFECTO |
|---|-------------------|------------------------------|--|
| <i>Haemonchus Placei</i> "Lombriz grande" | Abomaso | Hembra 18-30 / Macho 10-20 | Hematófago. Puntillado hemorrágico |
| <i>Ostertagia Ostertagi</i> "Lombriz marrón" | Abomaso | Hembra 8-9.2 / Macho 6-7.5 | Lesiones nodulares umbilicadas |
| <i>Trichostrongylus Axei</i> "Lombriz pequeña" | Abomaso | Hembra 3.5-8 / Macho 2.5-3.5 | Áreas de necrosis localizadas (crateriformes) |
| <i>Trichostrongylus Columbriformis</i> "Lombriz pelo" | Intestino delgado | Hembra 5-7.2 / Macho 4.5-5 | Alternan la función digestiva |
| <i>Cooperia Oncophora</i> "L. cuello estriado" | Intestino delgado | Hembra 6-8 / Macho 5.5-7 | Complican el cuadro de la ostertagiasis |
| <i>Nematodirus Helvetianus</i> "L. cuello enroscado" | Intestino delgado | Hembra 18-25 / Macho 11-17 | Altas cargas interfieren la absorción |
| <i>Oesophagostomum Radiatum</i> "Lombriz nodular" | Intestino grueso | Hembra 16-22 / Macho 14-17 | Formas inmaduras producen nódulos en intestino delgado |

NEMATODES GASTROINTESTINALES DE LOS OVINOS

| NOMBRE | UBICACIÓN | TAMAÑO (mm) | EFECTO |
|---|-------------------|---------------------------------|---|
| <i>Haemonchus contortus</i> "Palo de barbería" | Abomaso | Hembra 18-30 / Macho 10-20 | Hematófago. Puntillado hemorrágico |
| <i>Teladorsagia circumcincta</i> "Ostertagia del lanar" | Abomaso | Hembra 9.8-12.2 / Macho 7.5-8.5 | Lesiones nodulares umbilicadas |
| <i>Trichostrongylus axei</i> "Lombriz pequeña" | Abomaso | Hembra 3.5-8 / 2.5-3.5 | Áreas de necrosis localizadas (crateriformes) |
| <i>Trichostrongylus colubriformis</i>, <i>Vitrinus</i> "Diarrea negra" | Intestino delgado | Hembra 5-7.2 / Macho 4.5-5 | Alternan la función digestiva. En invierno producen cuadros de diarrea negra. |
| <i>Cooperia spp</i> "L. cuello estriado" | Intestino delgado | Hembra 6-6.5 / Macho 4.5-6 | Poco frecuente. Sí en pastoreo combinado con bovinos. |
| <i>Nematodirus battus</i>, <i>filicollis</i> "L. cuello delgado" | Intestino delgado | Hembra 15-24 / Macho 10-17 | Contribuyen a la diarrea negra de <i>T. colubriformis</i> |
| <i>Oesophagostomum venulosum</i> "Lombriz toneliforme" | Intestino grueso | Hembra 16-24 / Macho 10-18 | Formas inmaduras producen nódulos en intestino delgado |
| <i>Chabertia ovina</i> "L. boca grande" | Intestino grueso | Hembra 17-20 / Macho 13-14 | Lesiones en la mucosa, y eventual diarrea c/sangre |
| <i>Trichuris ovis</i> "Gusano látigo" | Intestino grueso | Hembra 35-70 / Macho 50-80 | Poco patógeno |

VISTA ESQUEMÁTICA DEL EXTREMO ANTERIOR, LONGITUD PROPORCIONAL DEL ESÓFAGO, ESPÍCULAS Y RAYO DORSAL POR GÉNERO PARASITARIO (Modificado de Lukovich, R. 1981)



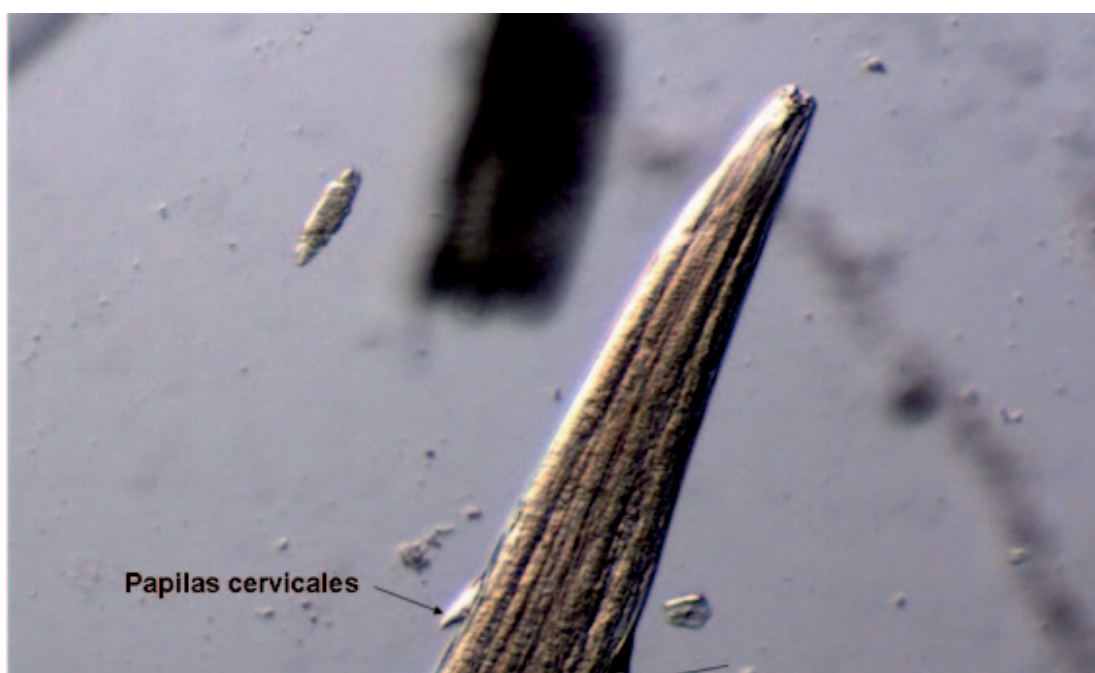
► PARÁSITOS DE ABOMASO

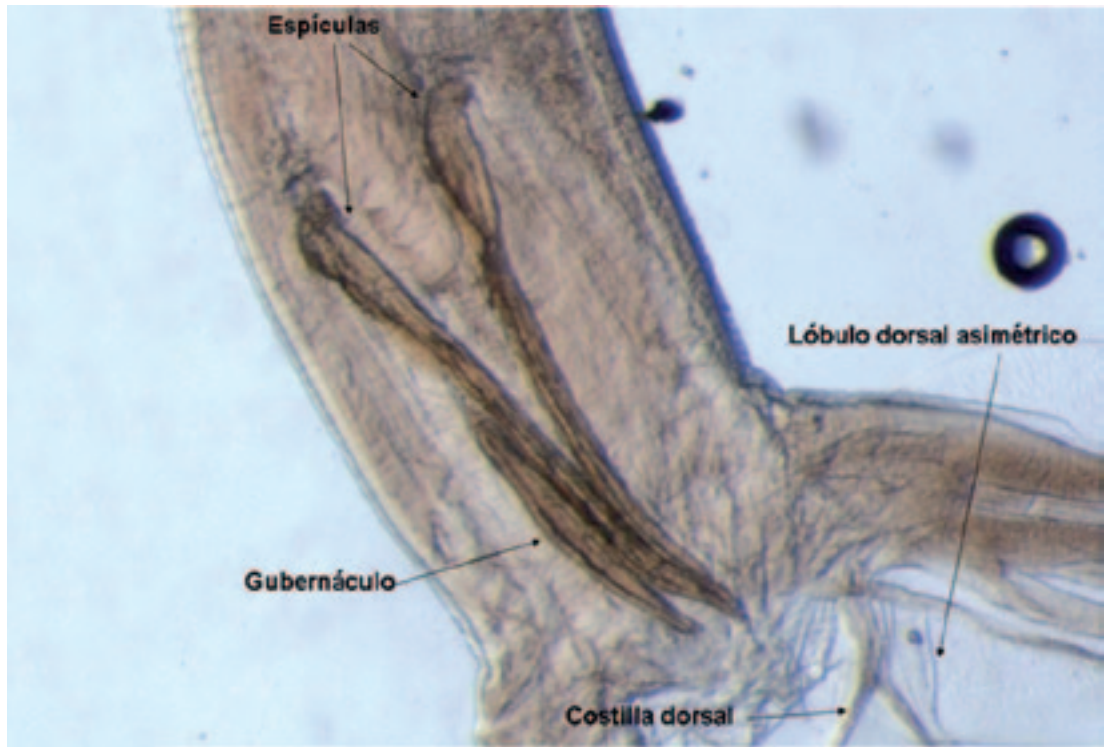
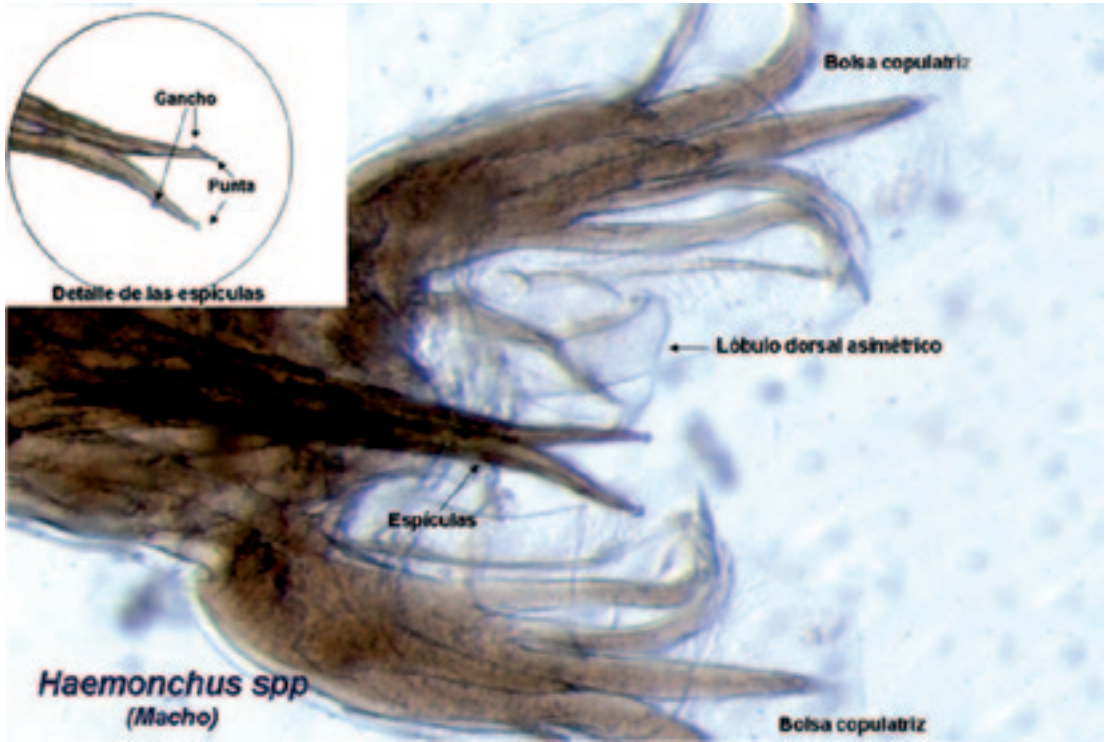
- *Haemonchus placei* (Lombriz grande del cuajo)

Hembra; 18-30 mm. Macho; 10-20 mm. Parásitos de color rojo. Extremidad anterior cónica, con papilas cervicales a la altura del primer tercio del esófago. El macho tiene la bolsa copulatriz con un lóbulo dorsal asimétrico y espículas en forma de "Y", con gubernáculo. La hembra tiene el útero (blanco opalino) enrollado alrededor del intestino (lleno de sangre roja) tomando la característica de "palo de barbería". Comúnmente tiene la vulva cubierta por un "flap" o lengüeta.

- *Haemonchus contortus* es común en los ovinos, de hecho produce mortandades hacia fines de primavera y otoño con cuadros asintomáticos y anemias severas. Salvo sutiles diferencias en las medidas de las espículas del macho (y las crestas cuticulares de las hembras) resulta muy difícil la diferenciación con la especie *placei*.

Con menor frecuencia, puede encontrarse *Haemonchus similis* (bovinos y cérvidos).

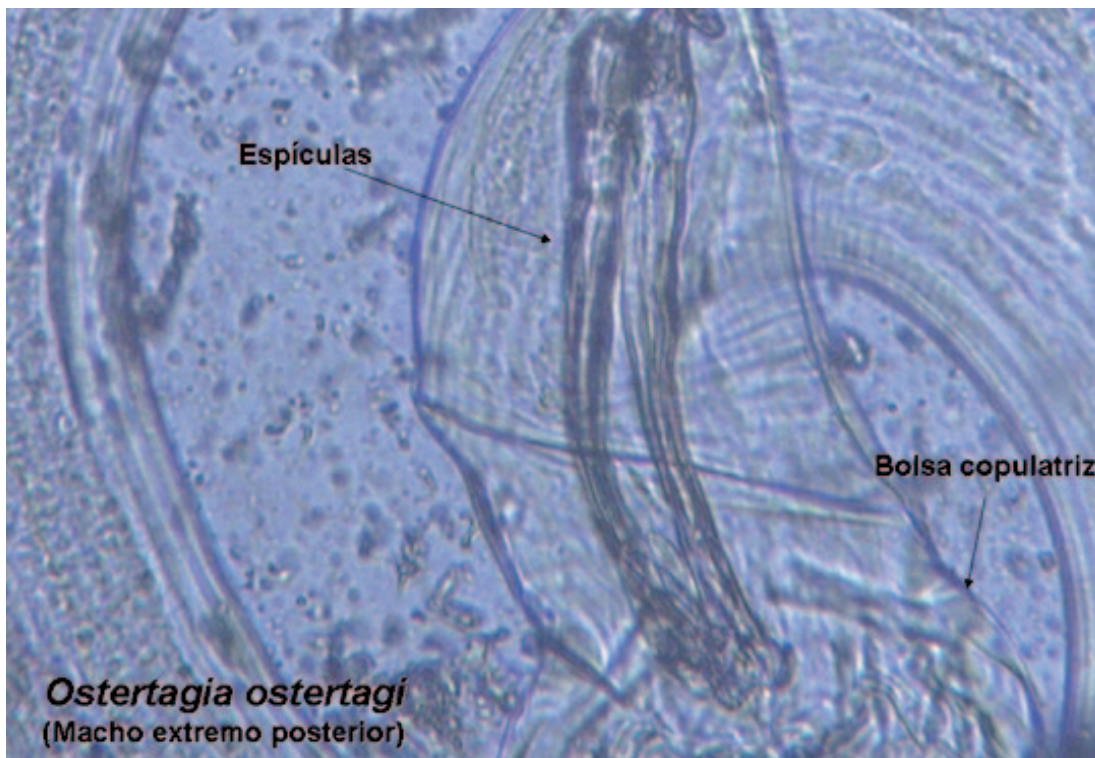
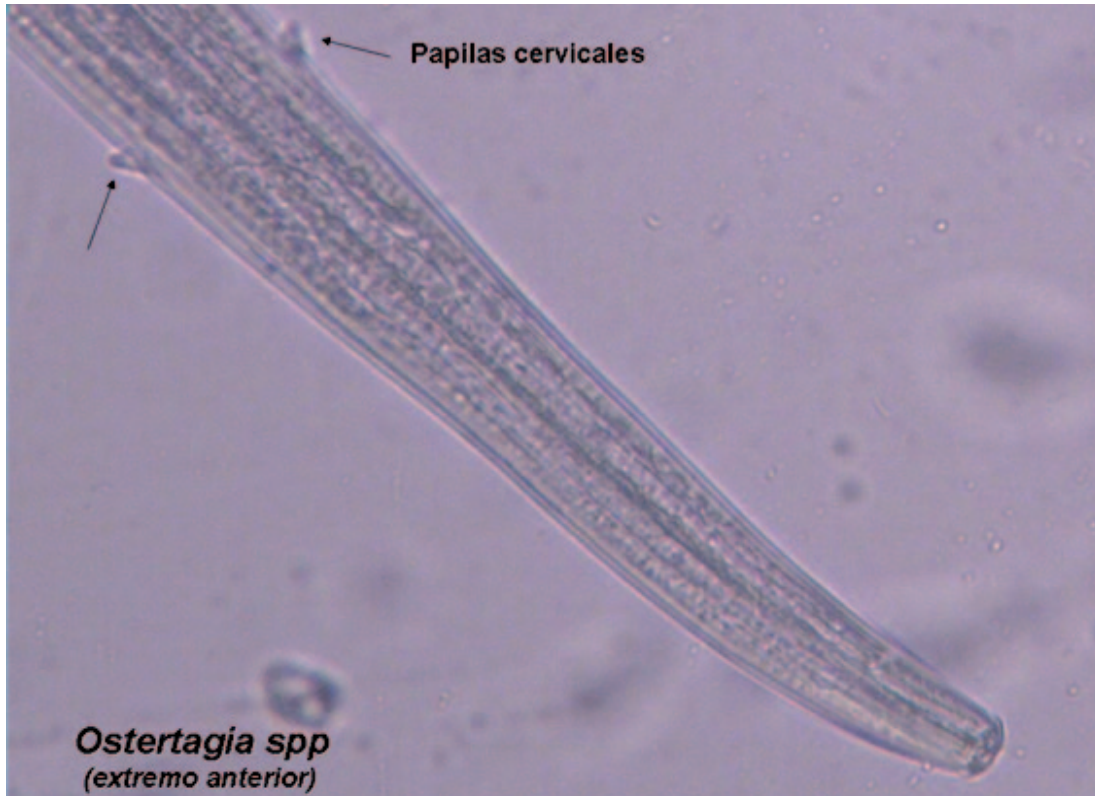


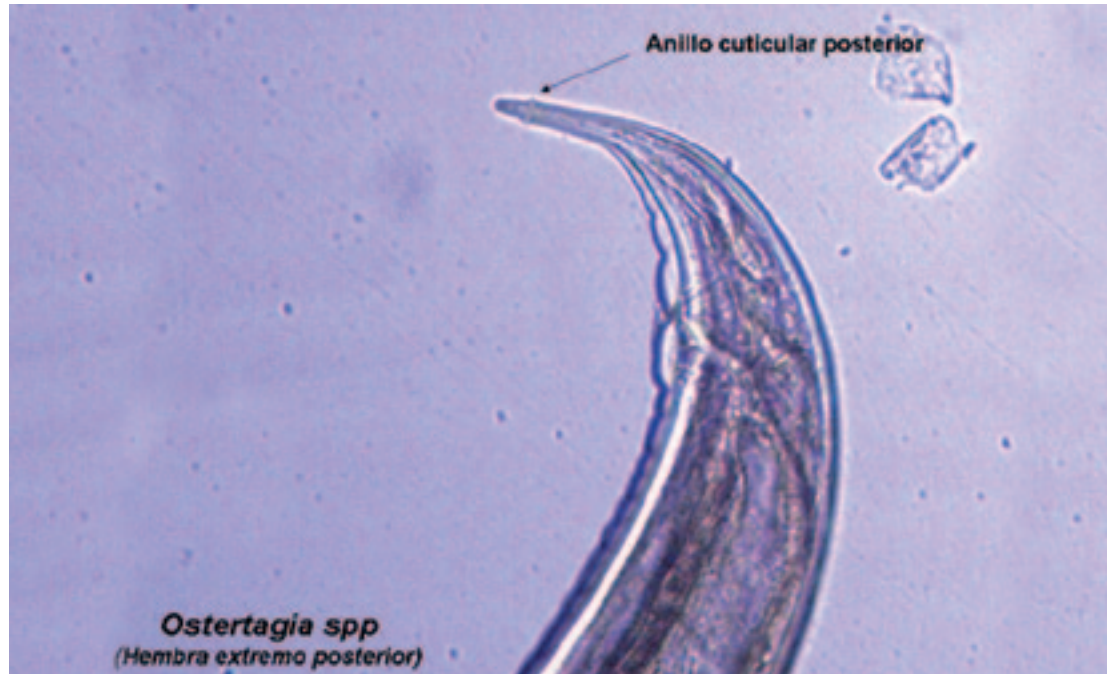




- *Ostertagia ostertagi* (Lombriz marrón o mediana del cuajo). Es el parásito más patógeno del bovino. Hembra: 8-9.2 mm. Macho: 6-7.5 mm. Extremidad anterior con forma rectangular (como tapita de gaseosa) y papilas cervicales más pequeñas que *Haemonchus*, ubicadas en la mitad del esófago. Bolsa copulatrix proporcionalmente pequeña, espículas cortas y delgadas que terminan en un botón hialino, con gubernáculo. En la hembra la vulva está cubierta por un flap en forma de mano ahuecada.

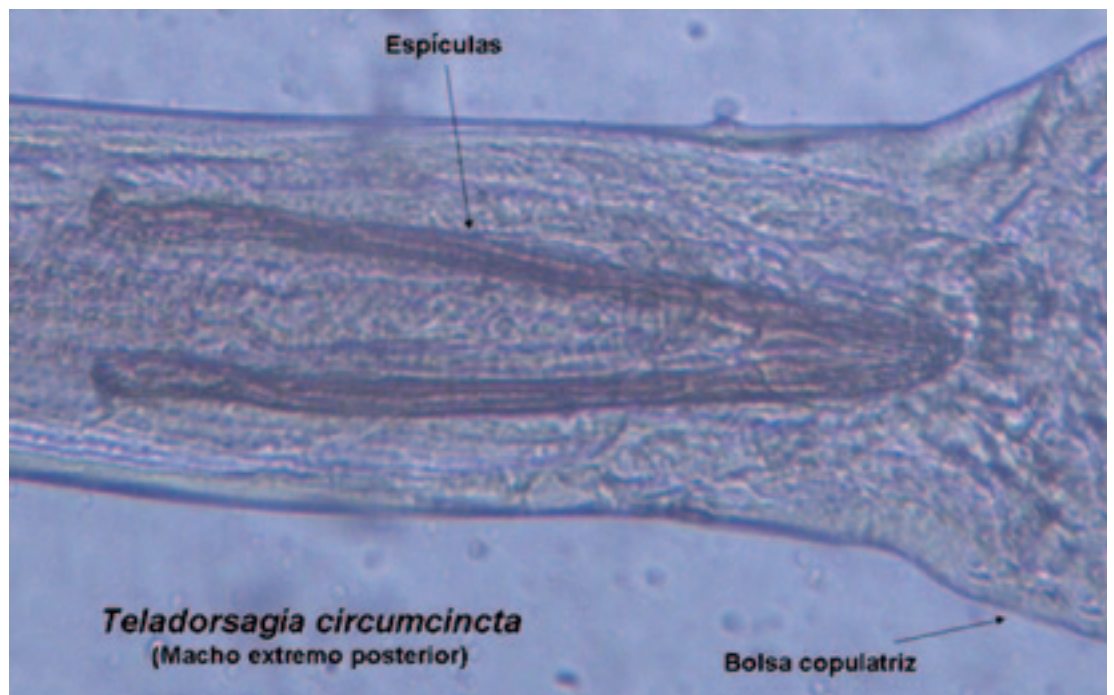




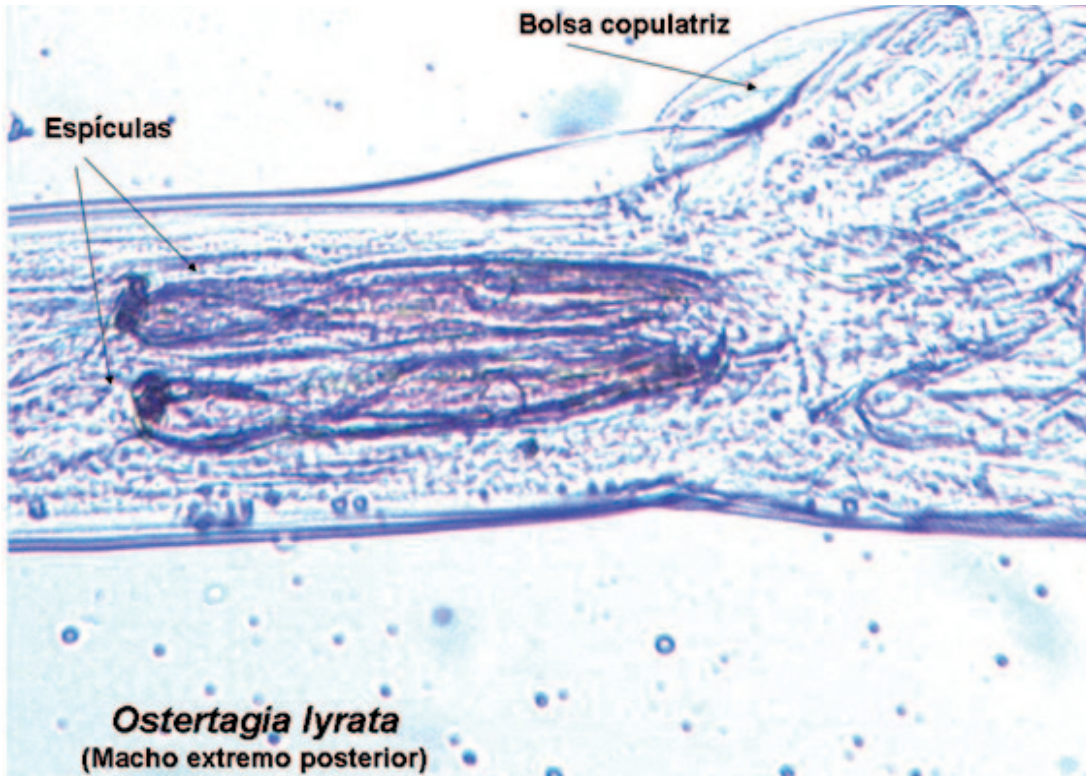


- *Teladorsagia circumcincta* (Ostertagia del lanar)

Hembra: 9.8-12.2 mm. Machos: 7.5-8.5. Está muy adaptada a los ovinos y caprinos. Las espículas son finas y terminan en un abultamiento con forma de botón transversal. La vulva está cubierta por una solapa y el extremo de la cola de la hembra presenta una banda engrosada con 4-5 estrías transversales.

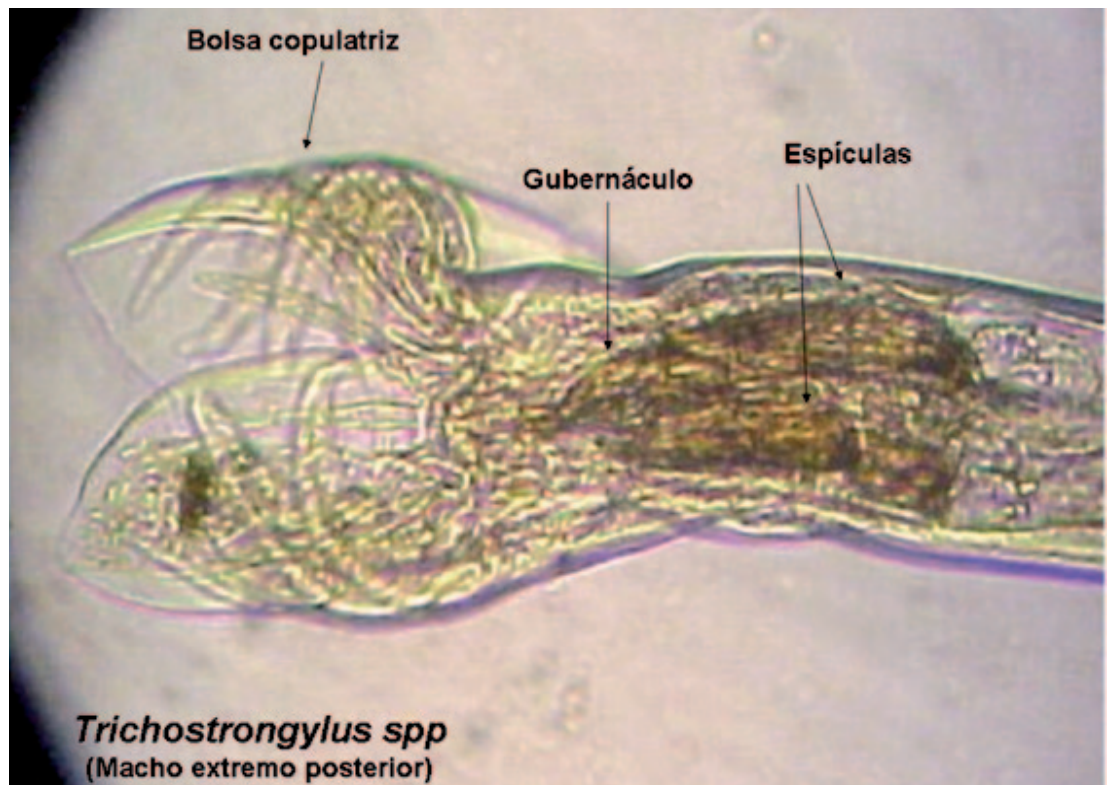


Con menor frecuencia, pueden encontrarse otras especies de *Ostertagia* como *lyrata* (bovinos), *trifurcata* (ovinos) y *leptospicularis* (cérvidos). También *Marshallagia marshalli* (ovinos), que se asocia al género *Ostertagia* y tiene la particularidad de eliminar huevos de gran tamaño (120-200 μ por 75-100 μ).



- *Trichostrongylus axei* (lombriz pequeña del cuajo). Es la única especie del género que se localiza en abomaso.

Hembra: 3.5-8 mm. Macho: 2.5-6 mm. Son vermes muy pequeños, filiformes y difíciles de ver. La extremidad anterior es delgada, no presenta cápsula bucal y posee un poro excretor a la altura del esófago, que es largo. El macho presenta espículas cortas, robustas y desiguales, con gubernáculo bien quitinizado. La hembra no presenta flap vulvar.

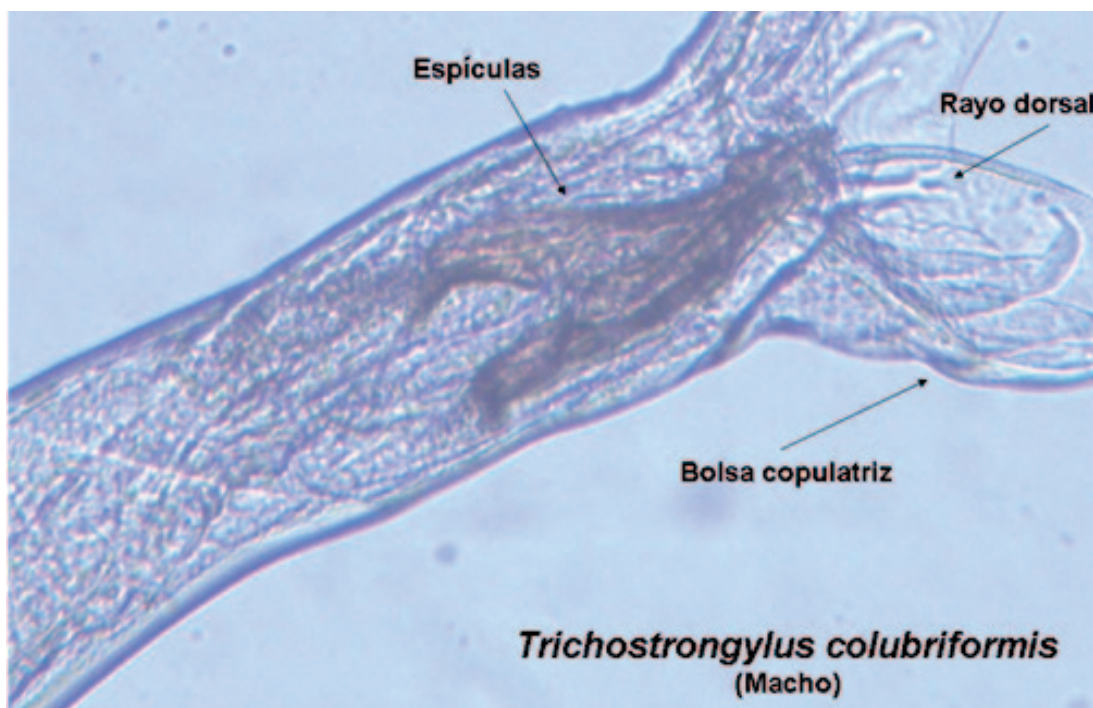


► PARÁSITOS DE INTESTINO DELGADO

- *Trichostrongylus colubriformis* (Lombriz pelo).

Hembra: 5-7.2 mm. Macho: 4-5.5 mm. Es similar al *T. axei*. El macho presenta las espículas casi iguales. Es de hallazgo poco frecuente en bovinos en tanto que, junto a *Haemonchus contortus*, son los parásitos más frecuentes en ovinos, causando cuadros diarreicos en el período invernal.

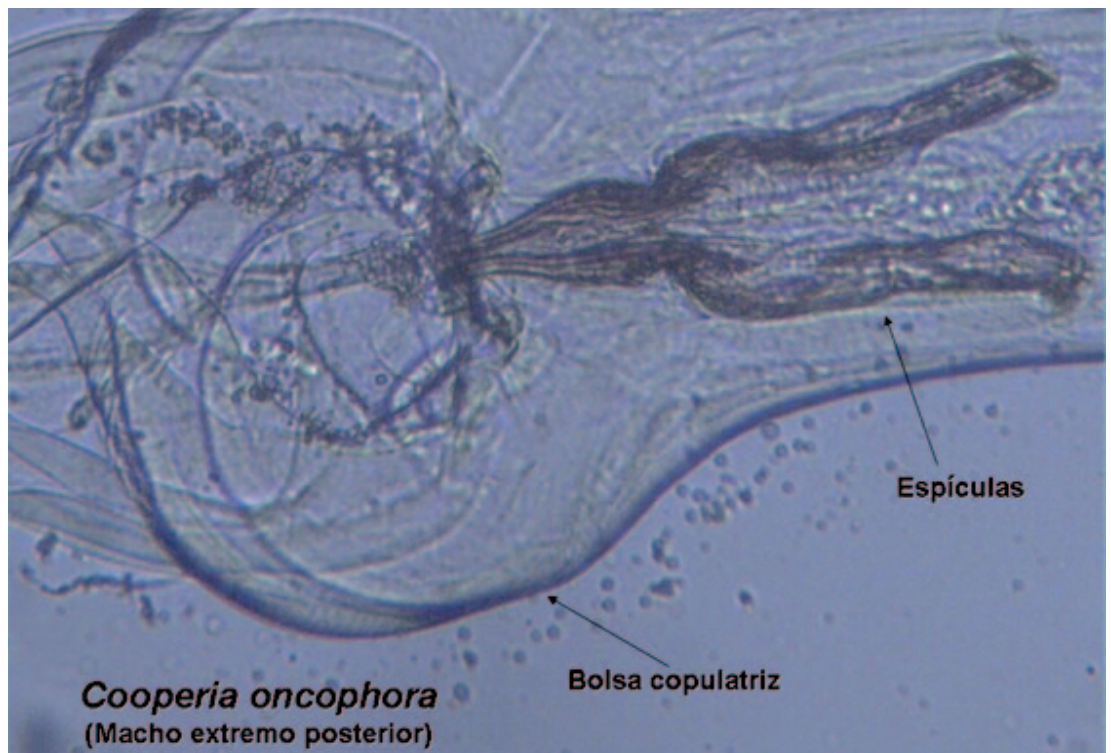
En menor medida se presentan *Trichostrongylus vitrinus* (ovinos) y *longispicularis* (bovinos).

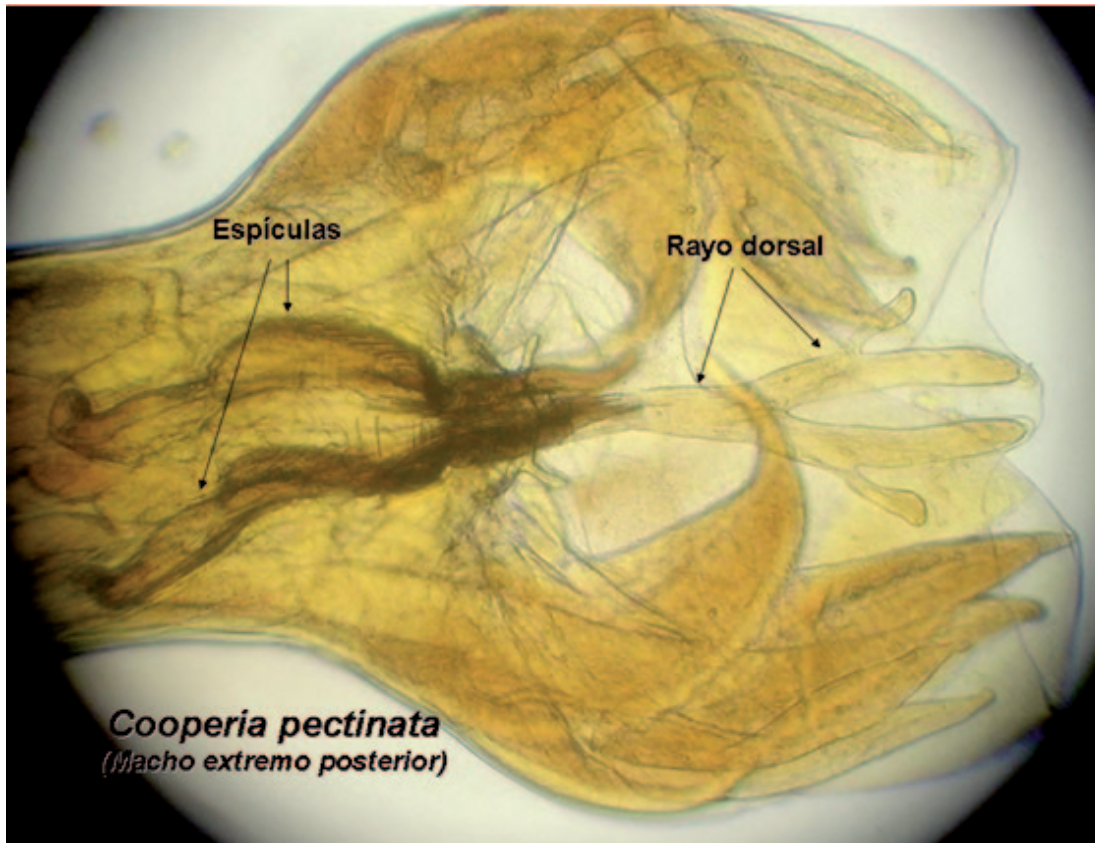


- ***Cooperia oncophora*** (Lombriz de cuello estriado).

Es la especie más común,. Hembra: 6-10 mm. Macho: 5.5-9 mm. Posee dilatación cuticular cefálica circularmente estriada, que termina a la altura del primer tercio del esófago, el cual es corto. El macho tiene bolsa copulatriz bien desarrollada, las espículas terminan en punta roma con un pequeño proceso hialino. La hembra se encuentra generalmente doblada en la región vulvar, con un flap característico. Es el más común de los géneros intestinales del bovino, y su presencia disminuye en animales mayores al año. En ovinos, se la encuentra en sistemas de pastoreo mixtos.

Regularmente se hallan también *punctata*, *curticei* y *pectinata*, que son más pequeñas que la anterior, con espículas marcadamente menores que la *oncophora*.





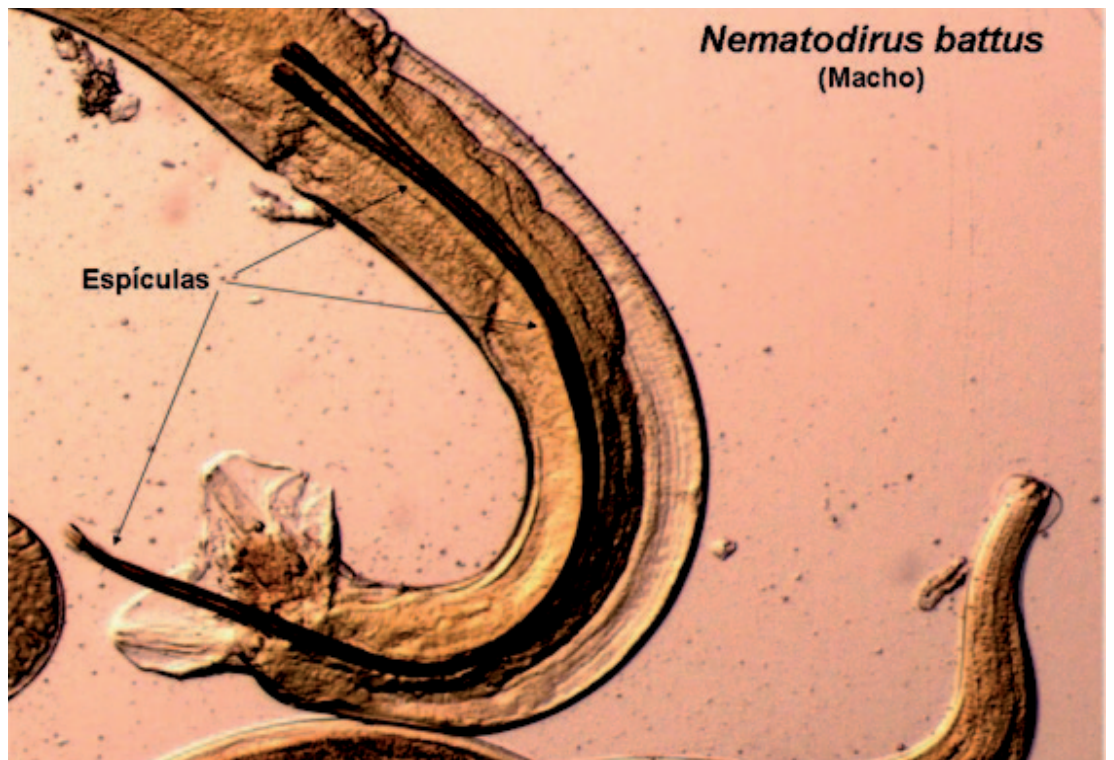
- ***Nematodirus helvetianus*** (Lombriz de cuello enroscado)

Hembra: 15-25 mm. Macho: 11-17 mm. El cuerpo es filiforme (la parte anterior del cuerpo es más delgada y por ello se enrosca), tiene dilatación cuticular cefálica y esófago corto. El macho tiene bolsa copulatrix bien desarrollada, con espículas muy largas que sobresalen por debajo de la bolsa copulatrix, terminando en forma de flecha (unidas por una membrana quitinosa). Las hembras tienen la vulva con abertura transversal y el útero aloja huevos característicamente grandes (200 μ) y con 4-8 blastómeros. Es hallado más frecuentemente en terneros de tambó.

- ***Nematodirus filicollis*** (ovino) de tamaño levemente inferior al anterior, presenta bolsa copulatrix de mayor tamaño y espículas más pequeñas que terminan unidas por una membrana quitinosa en forma de lanceta.

- ***Nematodirus spathiger*** (ovino-bovino) de tamaño similar al primero, presenta en la parte terminal de las espículas una membrana quitinosa en forma de cucharita o espátula.

- ***Nematodirus battus*** (ovino), espículas de tamaño similar al *filicollis*, se unen hacia el final por la membrana quitinosa que le da aspecto de triángulo de bordes redondeados.



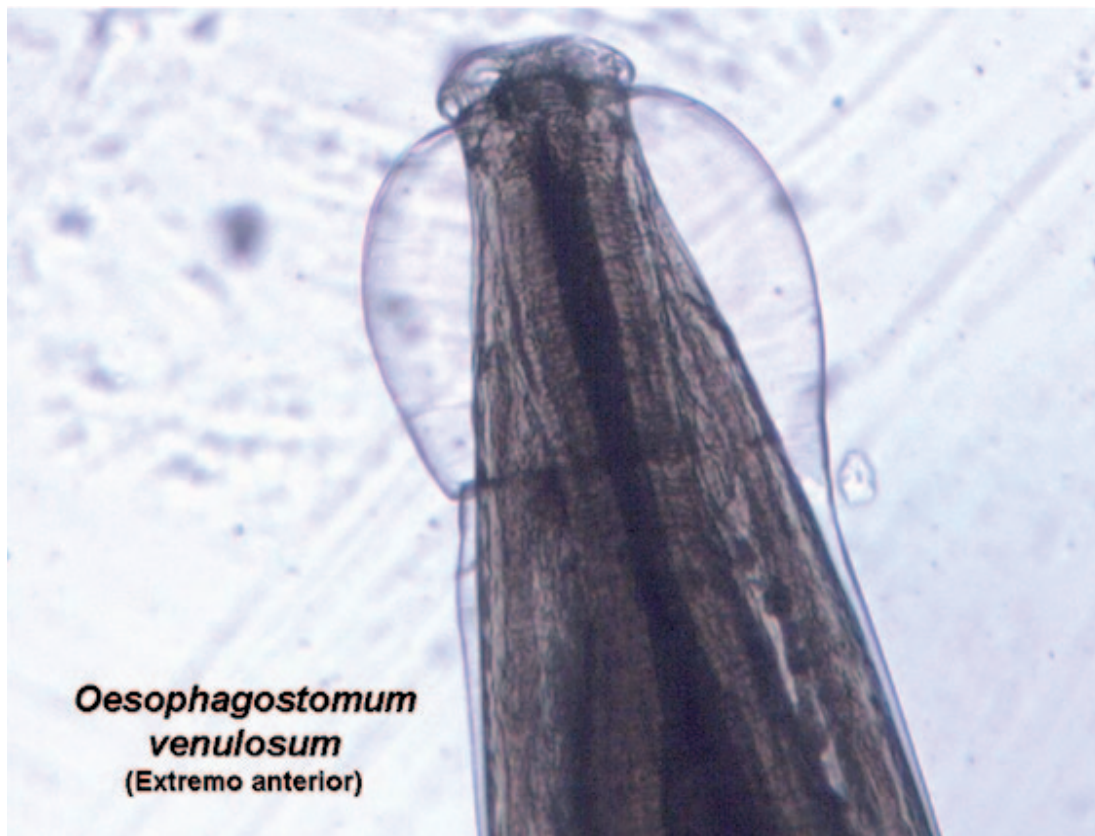
► PARÁSITOS DEL INTESTINO GRUESO

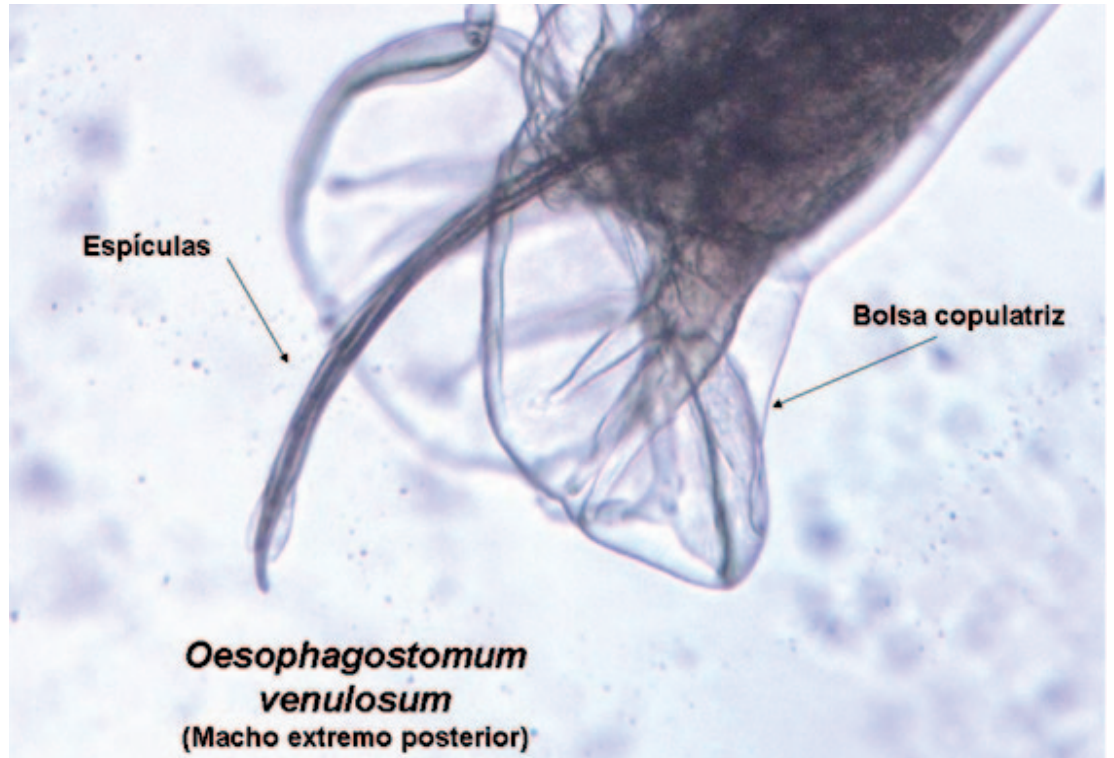
- ***Oesophagostomum*** (Lombriz nodular). Son parásitos gruesos, las tres especies del género se diferencian por la morfología de la dilatación cuticular cefálica. Las formas inmaduras producen nódulos (grano de tripa) en intestino delgado.

- ***Oesophagostomum radiatum*** (bovino) Hembra: 16-22 mm. Macho: 14-17 mm. La cápsula bucal es cilíndrica y angosta, con dilataciones cuticulares cefálicas características (ver cuadro) y papilas cervicales ubicadas en la mitad del esófago.

- ***Oesophagostomum venulosum*** (ovino-bovino), de tamaño algo menor y papilas cervicales ubicadas por debajo de la unión del esófago con el intestino.

- ***Oesophagostomum columbianum*** (ovino), es el que presenta menor dilatación cuticular cefálica, el tamaño es similar al primero. Las papilas cervicales se encuentran a la altura del primer tercio del esófago.





- *Chabertia ovina*.

Hembra: 17-20 mm. Macho: 12-14 mm. Poseen una abertura oral característica con dos coronas de dientes pequeños, cápsula bucal grande y sin dientes profundos. Las espículas del macho son delgadas y prolongadas (1300-1500 μ).





No han sido descritos aquí parásitos tales como *Strongyloides papillosus* (Int. delgado), *Bunostomum phlebotomum* (Int. delgado) y *Trichuris s.p.p.* (Int. grueso), por ser poco frecuentes y/o poco patógenos.

RECOMENDACIÓN

Existe numerosa bibliografía sobre la morfología y rasgos de los estadios adultos e inmaduros para posibilitar la identificación de los nematodos. Para ampliar las descripciones anteriores se recomienda consultar las siguientes publicaciones:

"Identificación de las formas adultas de los nematodos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes en la República Argentina", por Ratko LUKOVICH. Boletín técnico del INTA, 1981.

"Manual para diagnóstico das helmintosos de ruminantes" UENO, H. y GUTIERRES, V.C. Japan International Cooperation Agency (JICA), 1983.

"Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques" Technical Bulletin N° 18, Majesty's Stationery Office, London, 1971.

► INTERPRETACIÓN DE LOS RECIENTOS DE PARÁSITOS ADULTOS

- A diferencia de los métodos descritos anteriormente, que tratan de estimar la carga parasitaria que padecen los animales de una manera indirecta, el recuento de parásitos adultos, al ser una demostración directa, no ofrece mayores dificultades para su interpretación.

- Excepcionalmente, animales cebuínos o sus cruas, pueden sufrir parasitosis agudas evidenciando un cuadro gastro-entérico de extrema gravedad, con edemas que abarcan el abomaso y primera parte del duodeno. Bajo estas condiciones se eleva el pH del contenido abomasal, hasta convertirse en poco propicio aún para los parásitos, disminuyendo la carga parasitaria ante-mortem. En esta situación la determinación del pH abomasal, en el animal sacrificado recientemente, a través de cintas para tal fin, puede resultar de suma utilidad.

- Durante la primavera, la carga de parásitos adultos disminuye como consecuencia de la respuesta inmune de los novillitos y/o vaquillonas de sobreaño, siendo reemplazada por larvas hipobióticas del género *Ostertagia*. En este caso la carga de parásitos adultos recuperada puede ser baja, haciéndose necesaria la recuperación de formas inmaduras a través de la digestión péptica o solución salina normal.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuperación de formas inmaduras del cuajo e intestino delgado



Recuperación de
formas inmaduras
del cuajo e i. delgado



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Recuperación de formas inmaduras del cuajo e intestino delgado

La mucosa del abomaso e intestino delgado puede alojar parásitos gastrointestinales bajo la forma de estadíos en desarrollo (Larvas 3, 4 y 5) e inhibidos en su desarrollo (hipobióticos), que no pueden ser recuperados con la técnica anterior por hallarse en la profundidad de la mucosa.

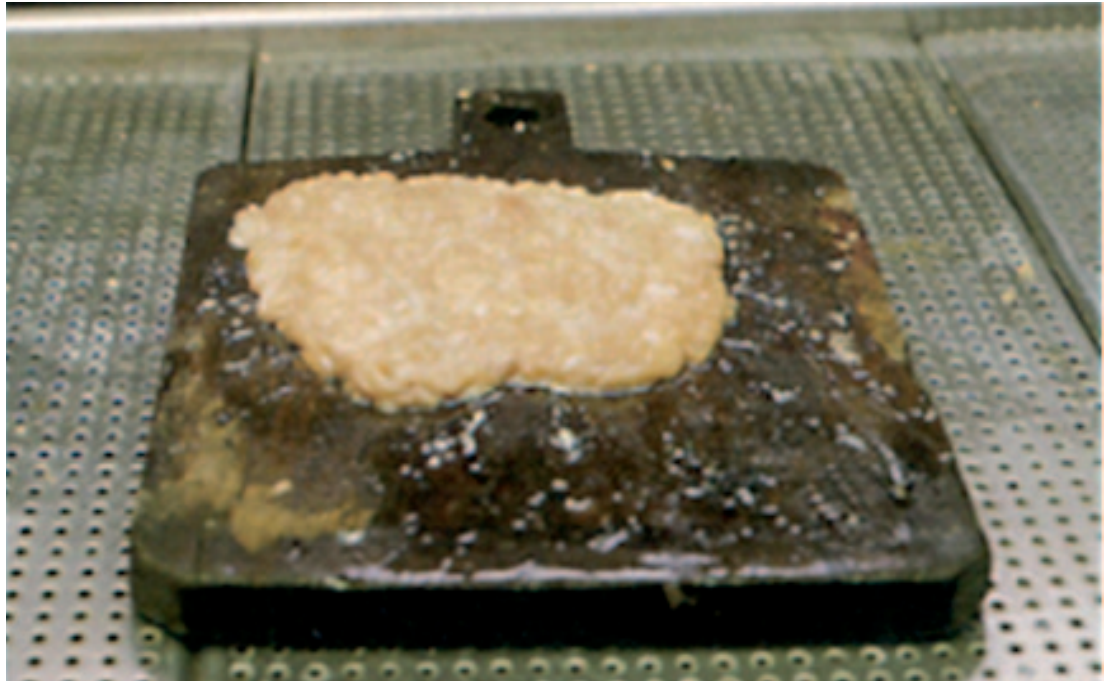
En base a lo expuesto, a través de la recuperación de formas inmaduras es posible detectar la fase inicial de una infección, la presencia de larvas en hipobiosis, o el efecto de un antihelmíntico sobre los estadíos inmaduros. Sin dudas que la mayor chance de encontrar parásitos en hipobiosis sucede con aquellos géneros alojados en el abomaso, en especial en bovinos con *Ostertagia ostertagi* y en mucho menor medida con *Trichostrongylus axei* y en ovinos con *Haemonchus contortus*.

Se describen aquí dos métodos destinados a recuperar los estadíos mencionados, de forma tal que se pueda proceder a su conteo e identificación:

► TÉCNICA DE DIGESTIÓN PÉPTICA

- Finalizado el lavado del cuajo o intestino, separar la mucosa raspando la misma con el filo de un cuchillo colocado en forma perpendicular a la superficie.



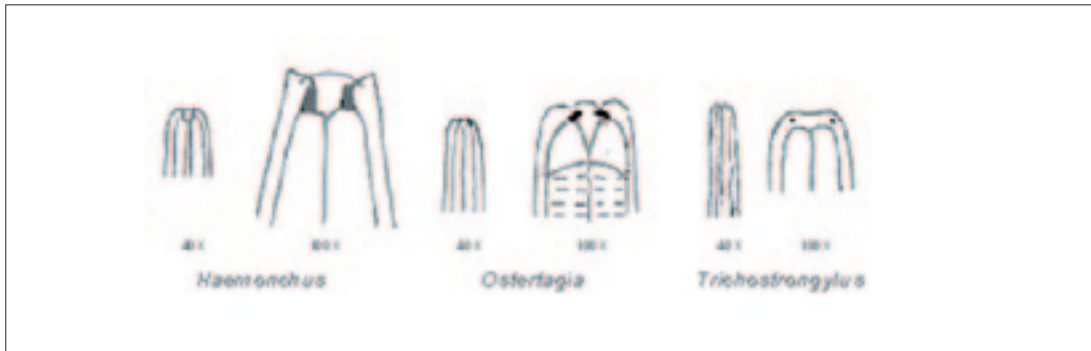


- Introducir la mucosa en un recipiente de vidrio o plástico.
- Agregar el líquido de digestión elaborado con:
Agua a 40° C: 1500 cm³
Ácido clorhídrico: 23 cm³ (agregar al agua antes que la pepsina).
Pepsina: 15 gr.
- Colocar el preparado a Baño María (37° C) durante 3-4 h hasta que no queden partículas sólidas de la mucosa.
- Filtrar a través de un tamiz de 37 μ (400 meshes), con la ayuda de agua muy caliente para evitar que la grasa impida el tamizado.
- Tomar una alícuota del filtrado, agregar unas gotas de solución yodurada, y realizar la lectura en lupa a 5-10 aumentos.

► RECUPERACIÓN EN SOLUCIÓN SALINA NORMAL

- Finalizado el lavado, sumergir el abomaso en solución salina fisiológica (al 9‰). Adicionar penicilina (1.200.000 U.I. por litro) y estreptomicina (1.5 gr/l) para contrarrestar el desarrollo de bacterias.
- Colocar a Baño María a 40° C durante 18 horas.
- Continuar el procesamiento de la manera descrita anteriormente en la digestión péptica.

La identificación de formas inmaduras debe realizarse transfiriendo las larvas a un porta/cubre objetos para examinarlas en un microscopio. Especialmente las larvas hipobióticas ofrecen algunas dificultades para su identificación. Debido a la escasa información disponible en la bibliografía, se detallarán a continuación algunos rasgos referidos al 4º estadio de los nematodos de abomaso, que pueden contribuir a un diagnóstico más certero:



Haemonchus: es la larva de mayor tamaño. Presenta formaciones “dentiformes” ubicadas paralelamente que le dan un aspecto cuadrangular a la cavidad bucal, muy desarrollada en comparación con los otros géneros.

Ostertagia: las larvas miden 1 mm de largo. Presentan una cavidad bucal cónica en virtud de la ubicación inclinada de las formaciones “dentiformes”, (de menor tamaño que en *Haemonchus*). En el esófago poseen fuertes estriaciones diagonales (no siempre visibles)

Trichostrongylus: es la larva de menor tamaño. La pequeña cavidad bucal no presenta estructuras remarcables, más allá de dos pequeños puntos que no siempre son visibles. El poro excretor semeja una muesca y se visualiza a la altura del esófago.

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Recuento de parásitos pulmonares



Recuento de
parásitos
pulmonares

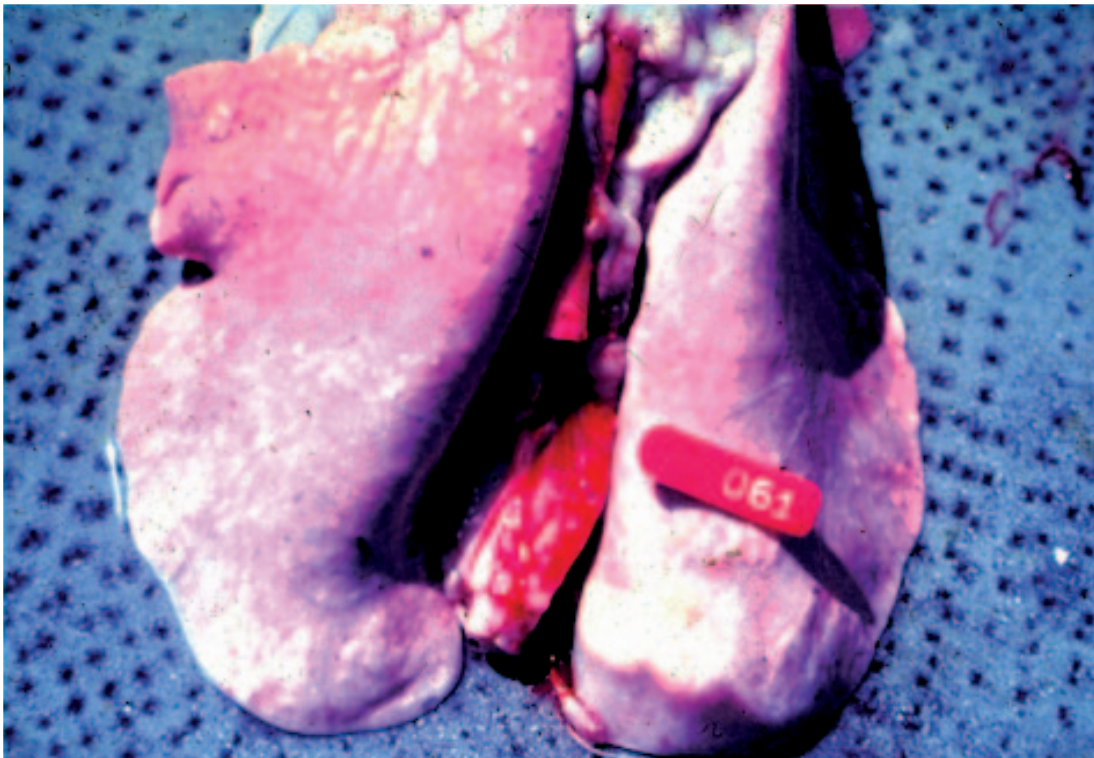


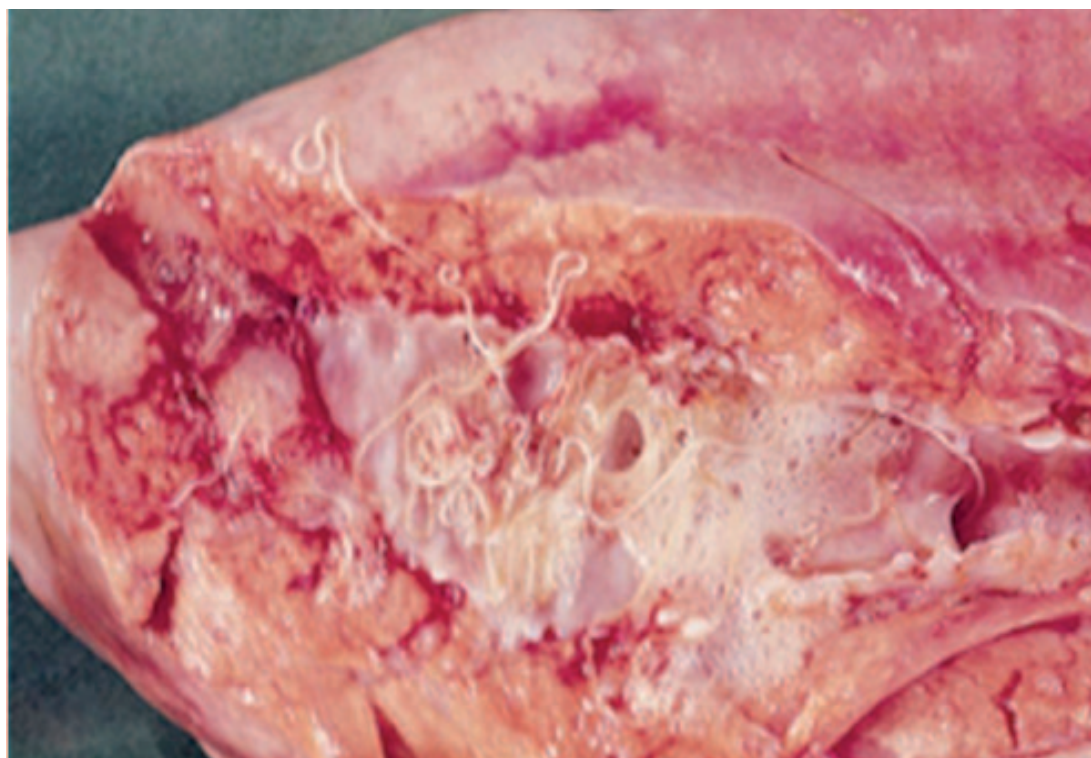
Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Recuento de parásitos pulmonares

La necropsia es generalmente definitiva en el diagnóstico de la Dictyocaulosis de los bovinos. Macroscópicamente se observan zonas de tamaño variable en proceso de “hepatización”, en el borde de los lóbulos diafragmáticos. El hallazgo de exudado y de parásitos en las vías aéreas, confirma el diagnóstico clínico.





Cabe recordar que estos vermes pueden medir de 60-80 mm en el caso de las hembras y 45-50 mm los machos. Tanto los parásitos adultos como las Larvas 5 son frecuentemente encontrados en el momento que se accede a los bronquios y bronquiolos con tijera de punta roma.

Si se desean contar los parásitos presentes en el pulmón, se puede utilizar la:

TÉCNICA DE PERFUSIÓN PULMONAR (INDERBITZIN, 1978)

- El pulmón, corazón y paquete arterio-venoso deben estar íntegros (sin cortes).
- Realizar un corte en el ventrículo derecho e introducir una cánula en la arteria pulmonar. Diseccionar ésta del resto del paquete arterio-venoso y ligar este último fuertemente con hilo o goma, de forma tal de impedir el reflujo de líquido del pulmón hacia el corazón.



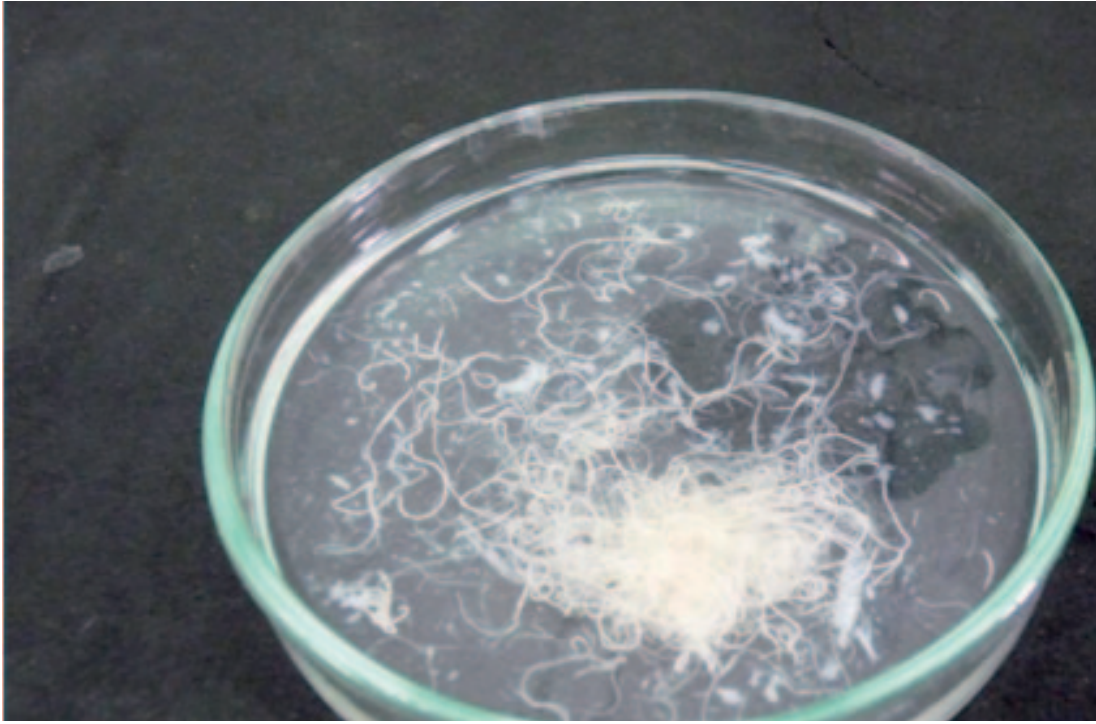
- Inyectar agua a presión (10-12 l) a través de la cánula y recoger la mismo por la tráquea.



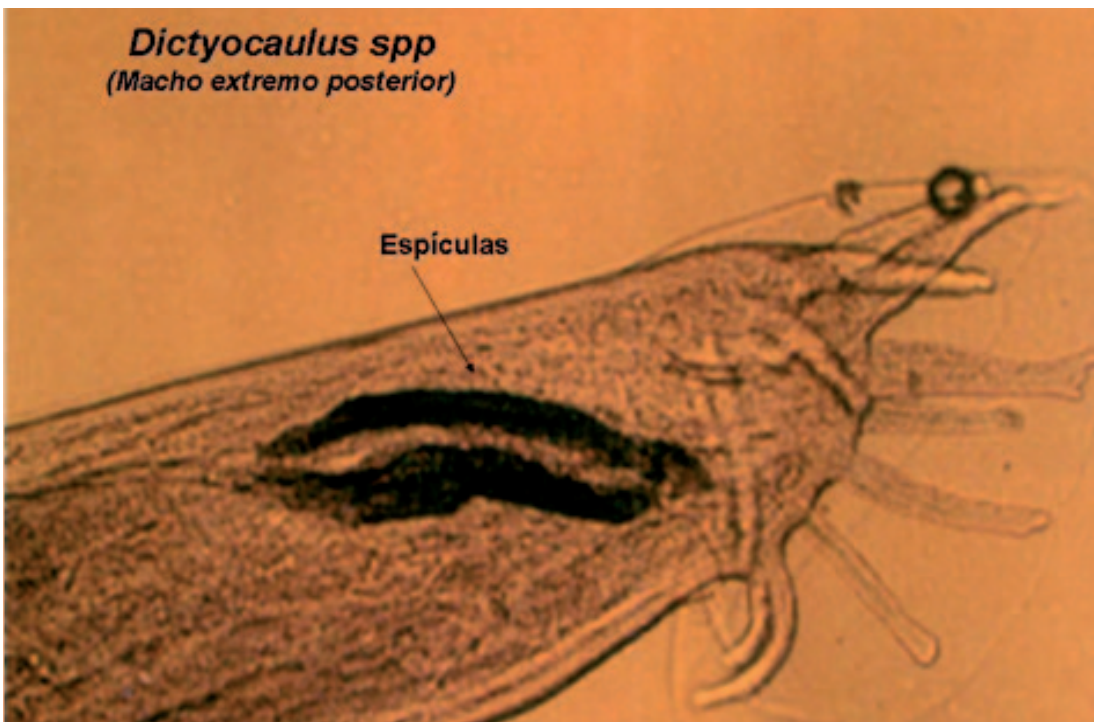
- De esta forma se produce el arrastre de los parásitos que pueden ser retenidos en un filtro para su posterior conteo. Para evitar que los vermes estallen por diferencia de presión se deben agregar 5-10 cm³ de solución sobresaturada de sal al recipiente que contenga la muestra.



- El inconveniente de esta técnica reside en que el tejido pulmonar se destruye por la presión del agua, inutilizándolo para cualquier otro tipo de análisis.



Dictyocaulus spp
(Macho extremo posterior)



DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Técnica de sedimentación para el diagnóstico coprológico de *Fasciola hepatica*

9

Técnica de
sedimentación



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Técnica de sedimentación para el diagnóstico coprológico de *Fasciola hepática*

Si bien la técnica original para el diagnóstico coprológico de *Fasciola hepática* por sedimentación fue descrita por Dennis, Stone y Swanson (1954), la misma ha sufrido diferentes modificaciones a través del tiempo, por lo que se decidió detallar a continuación la recomendada por el Laboratorio de Parasitología del INTA Bariloche a fin de estandarizar resultados.



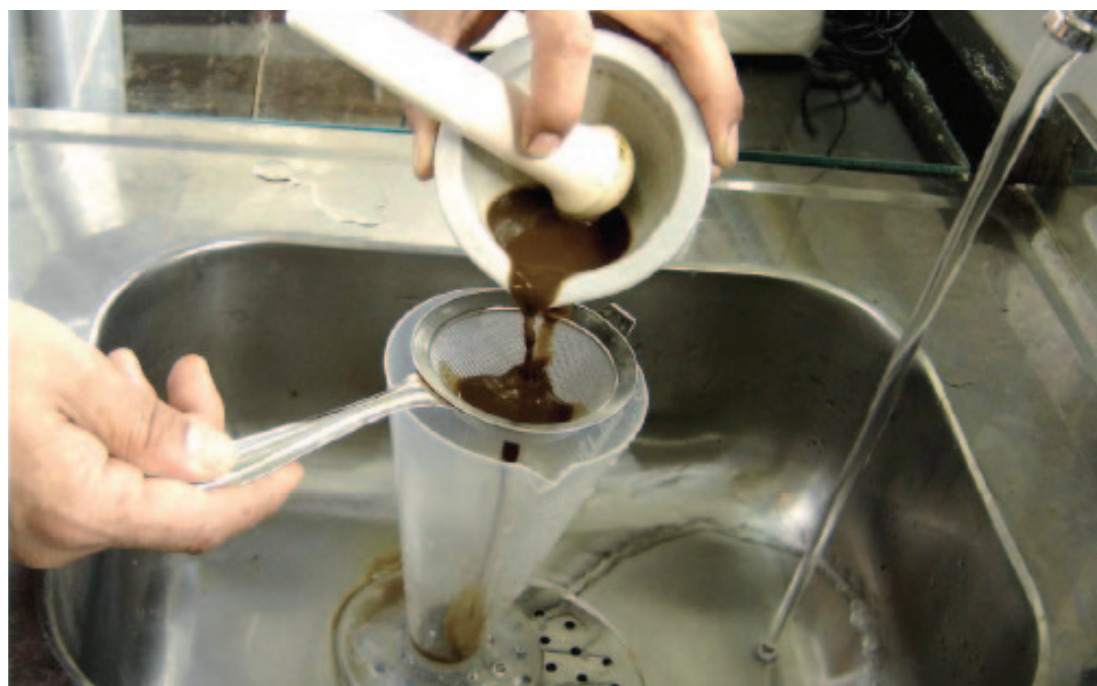
Equipo necesario para la realización de la técnica de sedimentación.

PROCEDIMIENTO

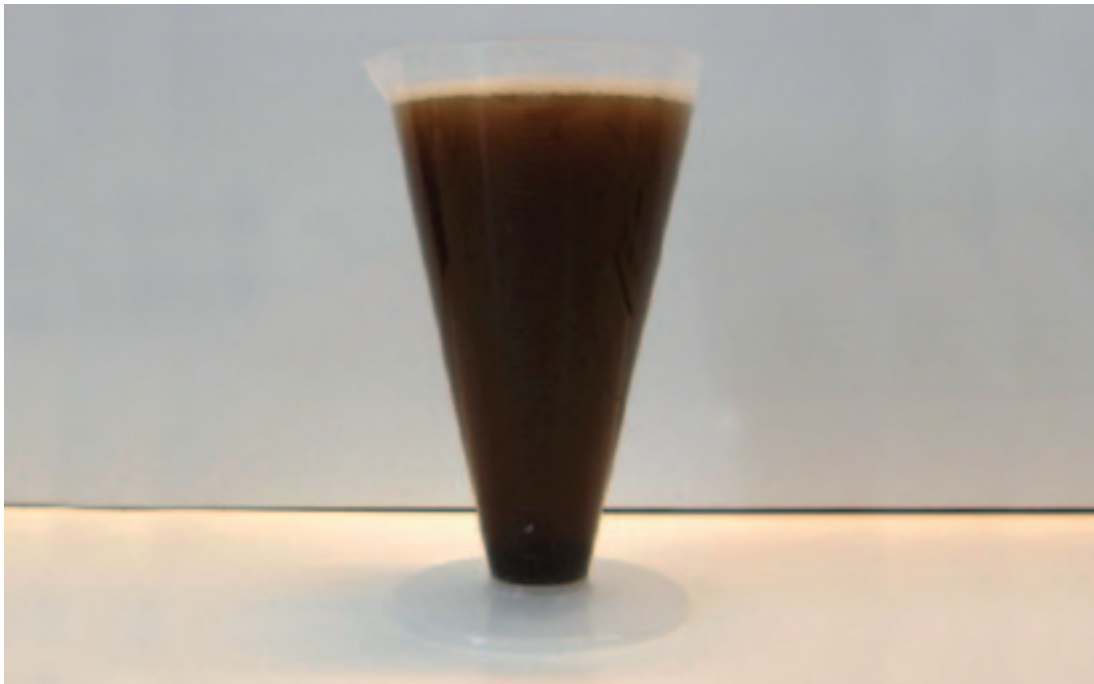
1. Preparar solución detergente al 0,5% (995 ml agua destilada y 5 ml detergente comercial).
2. Materia fecal:
 - Para análisis cualitativo (diagnóstico):
Bovinos: 5 gr. Ovinos: 3 gr.
 - Para análisis cuantitativo (estudios epidemiológicos o ensayos de eficacia): 2 gr.
3. Poner la materia fecal en el mortero con la solución detergente y homogeneizar la muestra con el pilón.



4. Filtrar por colador (común, de cocina) sobre un vaso cónico y completar el volumen con agua, lavando sobre el colador.



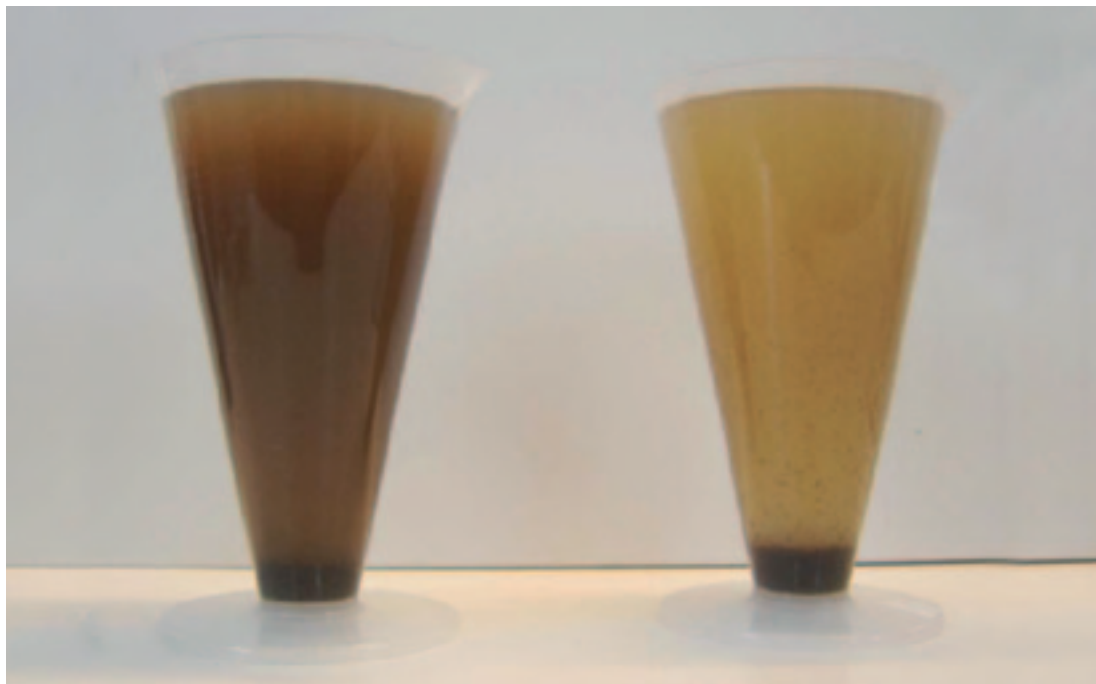
5. Dejar reposar de 10 a 15 m (el tiempo depende del tamaño del vaso, 10 minutos es suficiente para 500 ml).



6. Tirar el sobrenadante y completar con agua de canilla.



7. Repetir los pasos 5 y 6 unas 3 o 4 veces hasta que el sobrenadante quede transparente.



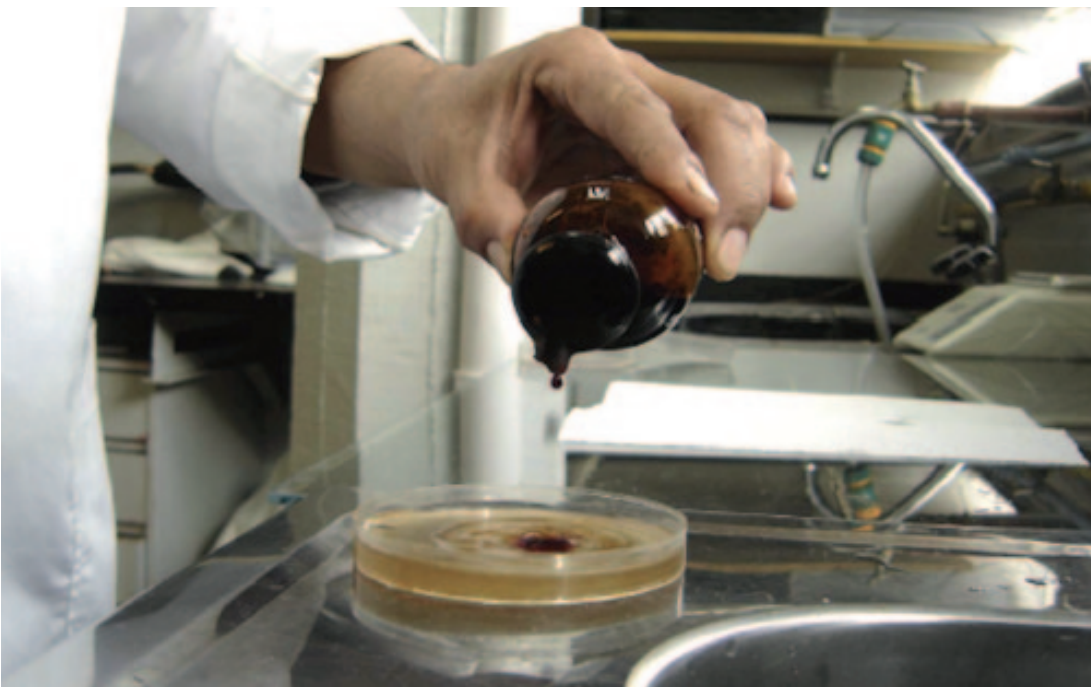
8. Tirar el sobrenadante y pasar el sedimento por un tamiz de 120 o 170 μ , completando con agua, y coleccionar en un vaso cónico para realizar una última sedimentación.



9. Tirar el sobrenadante, colocar el sedimento en placa de Petri o similar para examinar en la lupa con 3-4 gotas de lugol o verde de malaquita.

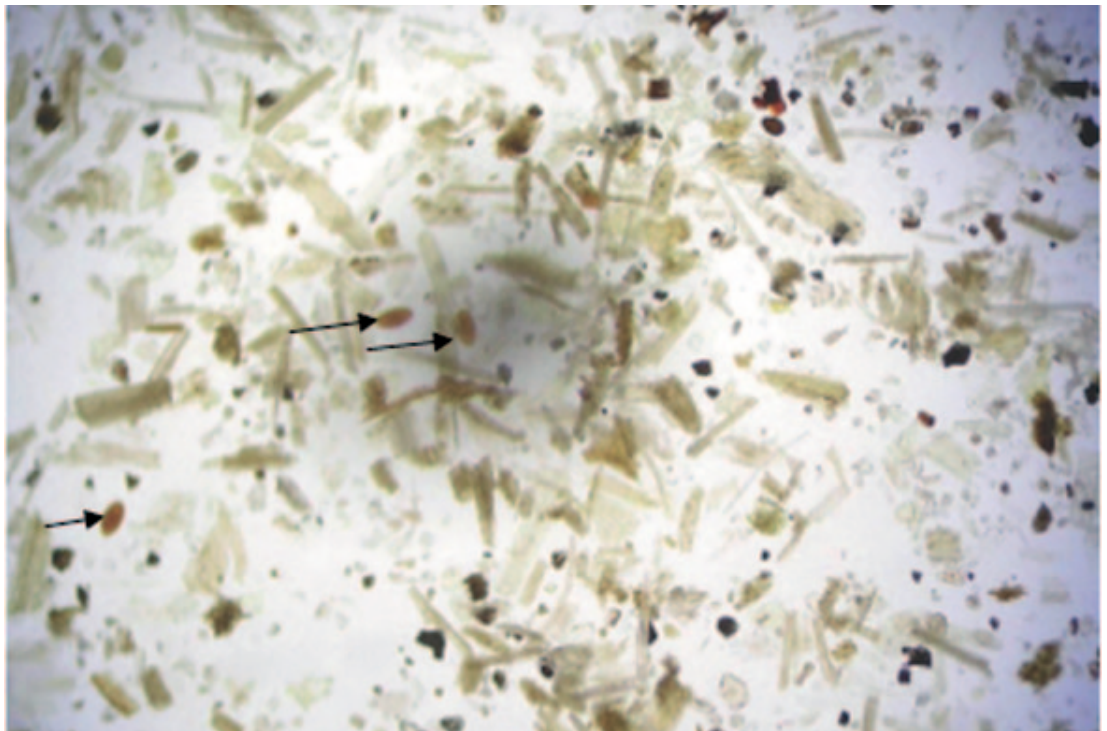


10. Observar cuidadosamente en la lupa (20–25 aumentos).



El huevo de *Fasciola hepática* mide 130–140 μ de largo por 70–90 μ de ancho y pasa muy bien por los filtros utilizados.

Importante: Lavar cuidadosamente los materiales utilizados entre muestras para no contaminar y producir falsos positivos.



Vista de huevos de *Fasciola hepática* en lupa estereoscópica (20X)

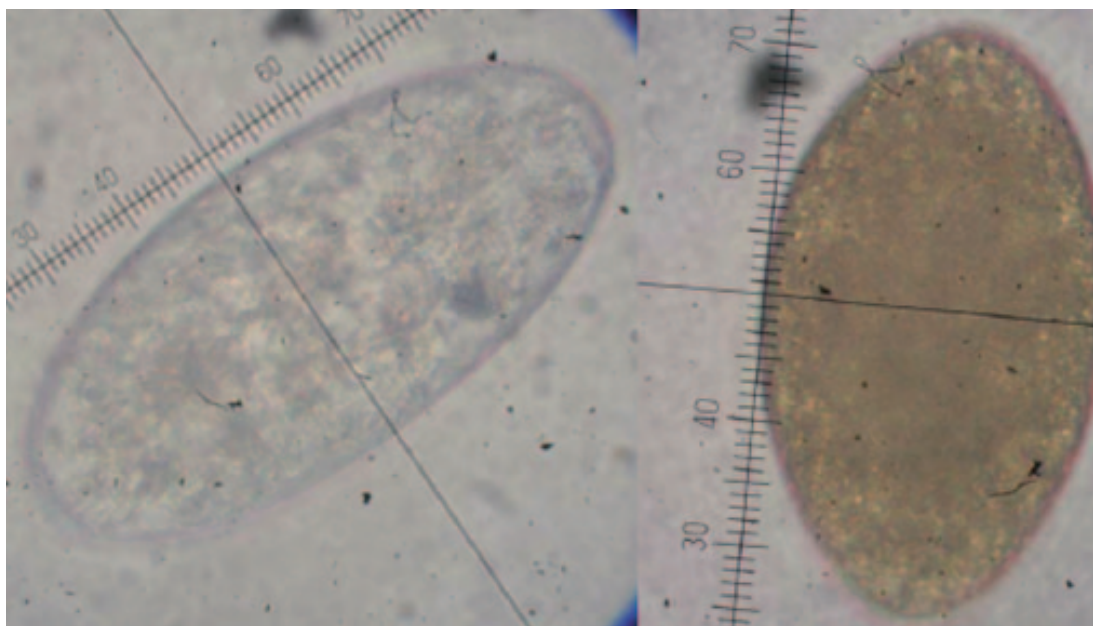
NOTA: Las fotografías utilizadas anteriormente para la descripción del proceso pertenecen al Dr. Fermín Olaechea (Jefe del Laboratorio de Parasitología del INTA Bariloche).

► **ALGUNAS OBSERVACIONES DE CARÁCTER PRÁCTICO:**

- Un resultado negativo no significa la ausencia de *Fasciola hepática* en los animales. Esto es atribuible a varios factores, entre los que se destacan la gran variabilidad y escasa sensibilidad de la técnica, el largo período de prepatencia (2-3 meses) y la barrera que significan los canalículos biliares y la propia vesícula para la eliminación de los huevos. El diagnóstico positivo, en animales desparasitados recientemente, hasta las 6 semanas del tratamiento puede deberse a la eliminación de huevos alojados en la vesícula biliar antes de la aplicación del fasciolocida (falso positivo).
- Es muy difícil, sobre todo en bovinos, relacionar el número de huevos/gr de materia fecal (H.p.g.), con el grado de infestación de los animales. Se asocian conteos de 5-20 H.p.g. con cargas de 60 especímenes adultos y pérdidas productivas en vaquillonas de dos años de edad; en tanto que la aparición de síntomas clínicos se relaciona con cargas de 150 parásitos y conteos superiores a los 20 H.p.g.
- Si la técnica no se realiza rutinariamente, o el operador no es experimentado, pueden producirse algunos errores en el diagnóstico al confundir huevos de otros parásitos similares a los de *Fasciola hepática*. Tal es el caso del *Paramphistomum* spp, trematode de localización ruminal (hasta 15 mm de largo) de

muy baja patogenicidad para animales en pastoreo. Los escasos cuadros clínicos descritos en la bibliografía se asocian a infecciones masivas en animales jóvenes y sin experiencia inmunológica. Por otra parte tales cuadros se producen por parásitos inmaduros (juveniles) en su migración intestinal hacia el rumen, donde finalmente alcanzan el estadio adulto e inician la oviposición.

Como se puede observar abajo, existe una gran similitud morfológica entre los huevos operculados de ambos géneros. El de *Paramphistomum* es algo más grande, con estructura interna de menor densidad y sin la coloración ocre característica de los huevos de *Fasciola hepática*.



Huevo de *Paramphistomum* spp a la izquierda y de *Fasciola hepática* a la derecha

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Diagnóstico de
resistencia a los
antihelmínticos

10

Diagnóstico de
resistencia a los
antihelmínticos



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Diagnóstico de resistencia a los antihelmínticos

► MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

Cualquiera sea el método utilizado para la detección de resistencia antihelmíntica, la correcta anamnesis se impone como un elemento imprescindible para establecer la posibilidad cierta de resistencia. Es primordial la información acerca de categoría animal, manejo del pastoreo, plan sanitario, pero sobre todo resulta fundamental el historial de desparasitaciones de los últimos 2-3 años, con un detalle minucioso de la frecuencia de uso, los principios activos, el nombre comercial y las dosis utilizadas.

Diferentes métodos han sido desarrollados para la detección de resistencia antihelmíntica, que abarcan tests *in vivo* e *in vitro*, pero sin dudas el más simple, económico y práctico de todos ellos (en términos de la actividad profesional a campo) es el Test de reducción del conteo de huevos (T.R.C.H.) en materia fecal. Establecida una disminución de la sensibilidad de las poblaciones parasitarias a través del T.R.C.H., el Test de eficacia controlada (T.E.C.) permitirá establecer cual es el grado de resistencia antihelmíntica.

Para mayor información acerca de los métodos *in vitro*, se recomienda la publicación "Métodos *in vitro* para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica", Cutullé y col. (1999), Vet. Arg. 16(157): 514-521.

1. TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (T.R.C.H.) EN MATERIA FECAL

El T.R.C.H. es simple y efectivo, puede ser utilizado en rumiantes, equinos y porcinos, con todo tipo de antihelmínticos y con todas las especies de nematodos cuyos huevos sean eliminados con la materia fecal.

El T.R.C.H. provee una estimación de la eficacia antihelmíntica clínica ante infecciones naturales a través de la comparación de los conteos de huevos por gramo (H.p.g.) de materia fecal en animales, antes y después del tratamiento antihelmíntico.

Si bien puede ser utilizado en otras especies animales, se establecen aquí las recomendaciones para su utilización en rumiantes.

1.1. ANIMALES.

Se recomienda la utilización de animales jóvenes, menores de un año de vida, dado que, superada esta edad, la respuesta inmune puede disminuir o anular la oviposición de gran parte de los géneros parasitarios.

Los animales seleccionados para la realización del T.R.C.H. deben tener como mínimo conteos de 100 H.p.g. para bovinos y 200 H.p.g. para ovinos. Los grupos de animales se forman sobre la base de los conteos de H.p.g de forma tal de asegurar una distribución homogénea para cada uno de ellos.

Se recomienda la utilización de la técnica de Mc Master modificada (ver técnica N° 1 de este manual)

1.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES Y CONFECCIÓN DE LOS GRUPOS

Se recomienda armar grupos de 10 animales como mínimo aunque lo ideal es trabajar con 20 por grupo.

En una primera pasada por la manga, identificar con caravanas chicas numeradas y muestrear el doble de los animales necesarios para conformar los grupos, de manera que se pueda realizar una buena selección de aquellos con conteos de H.p.g. más altos. Efectuados los conteos de H.p.g., ordenarlos de menor a mayor y confeccionar los grupos de tal forma que el promedio de H.p.g. sea homogéneo. Una manera práctica de hacerlo es realizando una tabla en la que cada columna corresponde a un grupo, y los animales se van distribuyendo en forma de "guarda griega".

Una vez confeccionados los grupos, identificar a los animales con una segunda caravana numerada, en este caso grande y de diferente color para cada grupo. Así, los animales quedan doblemente numerados, facilitando la identificación aún ante la eventual pérdida de una caravana.

1.3. TRATAMIENTOS.

Se debe contar, como mínimo, con dos grupos básicos: un control no tratado y otro tratado con la droga problema. Sin embargo, a favor de la practicidad y calidad del servicio se recomienda la incorporación de los tres principios activos de antihelmínticos de amplio espectro en bovinos (IVM, BZD y LVS) incorporando también el monepantel y derivados fosforados en los ovinos. De esta manera, en un solo test, se puede determinar cual/es principios activos se encuentran comprometidos, y cual/es son la alternativa efectiva.

Como pueden existir variaciones en la calidad de los productos genéricos es recomendable la utilización de los principios activos originales ("drogas madre") de los cuales se cuenta con la efectividad declarada para cada género parasitario en las pruebas de registro inicial. Cada grupo químico evaluado debe ser aplicado respetando la vía y dosis recomendada por el fabricante. Para esto, es importante la determinación o estimación del peso individual de cada animal para aplicar la dosis correcta.

Se recomienda la inclusión de un grupo de animales que actúen como controles no tratados para mejorar la confiabilidad de la eficacia de los productos evaluados.

1.4. MUESTREOS DE MATERIA FECAL

Extraer las muestras de materia fecal directamente del recto en bolsas de polietileno (40-60 gr por cada animal para bovinos, 5-10 gr para ovinos) e identificarlas. Extraer el aire de la bolsa al cerrarla y refrigerar las muestras para remitirlas al laboratorio. Las muestras pueden ser almacenadas a no menos de 4°C ya que temperaturas inferiores pueden afectar la eclosión de huevos de algunos géneros parasitarios en los coprocultivos.

Los conteos de H.p.g. que se realizan el día que se aplican los tratamientos corresponden al día 0 (cero). Se debe realizar el siguiente muestreo de materia fecal a los 14-15 días post-tratamiento.

1.5. CÁLCULO DE LA REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (R.C.H.)

Para el cálculo del porcentaje de reducción de los conteos de H.p.g. se recomienda el uso del promedio de cada grupo de las muestras colectadas a los 14-15 días post-tratamiento.

La fórmula recomendada para calcular la reducción de los conteos de huevos es (Coles et al., 1992):

$$\text{R.C.H. (\%)} = \frac{\bar{C} - \bar{T}}{\bar{C}} \times 100$$

Donde \bar{T} es la media aritmética del grupo tratado y \bar{C} es la media aritmética del grupo control sin tratamiento a los 14-15 días post-tratamiento.

NOTA: en aquellos casos donde no se puede utilizar un grupo control sin tratamiento, la reducción se calcula sobre el conteo inicial (día 0), que reemplaza al grupo control.

Cuando los conteos de huevos presentan gran variabilidad en sus datos se puede utilizar la fórmula propuesta por Dash (1988):

$$\text{R.C.H. (\%)} = \frac{\text{Prom. Trat. día 15}}{\text{Prom. Trat. día 0}} \times \frac{\text{Prom. Control día 0}}{\text{Prom. Control día 15}} \times 100$$

1.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Se interpreta como resistencia antihelmíntica un resultado de R.C.H. por debajo del 90% para bovinos y 95% para ovinos.

- En rumiantes, los resultados del test deben ser considerados como una estimación de la eficacia clínica de un producto debido a que la postura de huevos por los nematodos no siempre guarda una estrecha correlación con la carga parasitaria.

- En este contexto, el test puede mostrar mayor eficiencia con géneros que poseen un alto potencial biótico y/o con buena correlación entre el número de huevos y el de nematodos, como por ejemplo *Haemonchus*, pero podría ser menor cuando se considera al género *Ostertagia*.

- Una limitante del test es que puede detectar resistencia a un principio activo cuando ya el 25% de los genes resistentes al mismo están expresados en la población parasitaria. En estas condiciones, no pocas veces el diagnóstico de resistencia a través del T.R.C.H. coincide con síntomas y signos clínicos de parasitosis gastrointestinal atribuibles a fallas del tratamiento.

1.7. DIAGNÓSTICO DE LOS GÉNEROS PARASITARIOS ACTUANTES EN BASE A COPROCULTIVOS

Con el objetivo de obtener información acerca de los géneros involucrados en la resistencia antihelmíntica, se recomienda realizar coprocultivos en pooles por grupo (4-5 g por muestra) los días 0 y 14-15 post-tratamiento, y la identificación posterior de larvas infectantes (L3) para determinar la participación relativa de cada género parasitario (Ver técnica N° 2 de este manual).

2. TEST DE EFICACIA CONTROLADA (T.E.C.).

Una vez determinada la resistencia antihelmíntica a través T.R.C.H., es posible confirmarla definitivamente a través del Test de eficacia controlada. Este es el método más confiable para evaluar la sensibilidad de los nematodos a los antihelmínticos. Se basa en cuantificar las diferencias entre los conteos de vermes de grupos de animales tratados y no tratados, y permite establecer la eficacia sobre adultos y formas inmaduras. Como desventajas pueden citarse su alto costo, su laboriosidad y el tiempo que demanda.

Si se requiere la identificación de los parásitos resistentes, una forma práctica de obtenerla es sacrificando 2-3 animales por cada grupo del T.R.C.H. La necropsia de animales del grupo control no tratado permite establecer el nivel de infección, así como la composición de la población parasitaria a nivel de género y especie.

Las necropsias deben realizarse entre las 2 y 3 semanas de aplicados los tratamientos antiparasitarios, siempre que los animales no hayan seguido sobre pasturas infectadas con nematodos gastrointestinales durante ese período.

2.1. NECROPSIA, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS ADULTOS (Ver técnica N° 6)

DIAGNÓSTICO DE ECTOPARÁSITOS

El diagnóstico e identificación de los ectoparásitos posee una obvia ventaja sobre los endoparásitos ya que pueden ser observados directamente sobre el hospedador, permitiendo en base a la localización, tipo de lesión, época del año, etc., la realización de un diagnóstico presuntivo.

El diagnóstico convencional consiste en observar a los animales especialmente en la zona afectada, y relacionar los hallazgos con los parásitos que pueden habitar ese lugar. *La experiencia demuestra que la observación directa a ojo desnudo, o la realizada con lentes especiales, constituyen el mejor sistema para el diagnóstico de la mayoría de las ectoparasitosis.* Para la identificación del parásito suelen requerirse estudios morfológicos más complejos e incluso la participación de un especialista.

De tal manera, la observación directa de los parásitos sobre el hospedador permite establecer una caracterización primaria del agente a nivel de clase (insectos o arácnidos) e incluso, en las pediculosis, de orden y suborden (piojos masticadores o chupadores).

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Identificación de ácaros de la sarna

11

Identificación
de ácaros
de la sarna

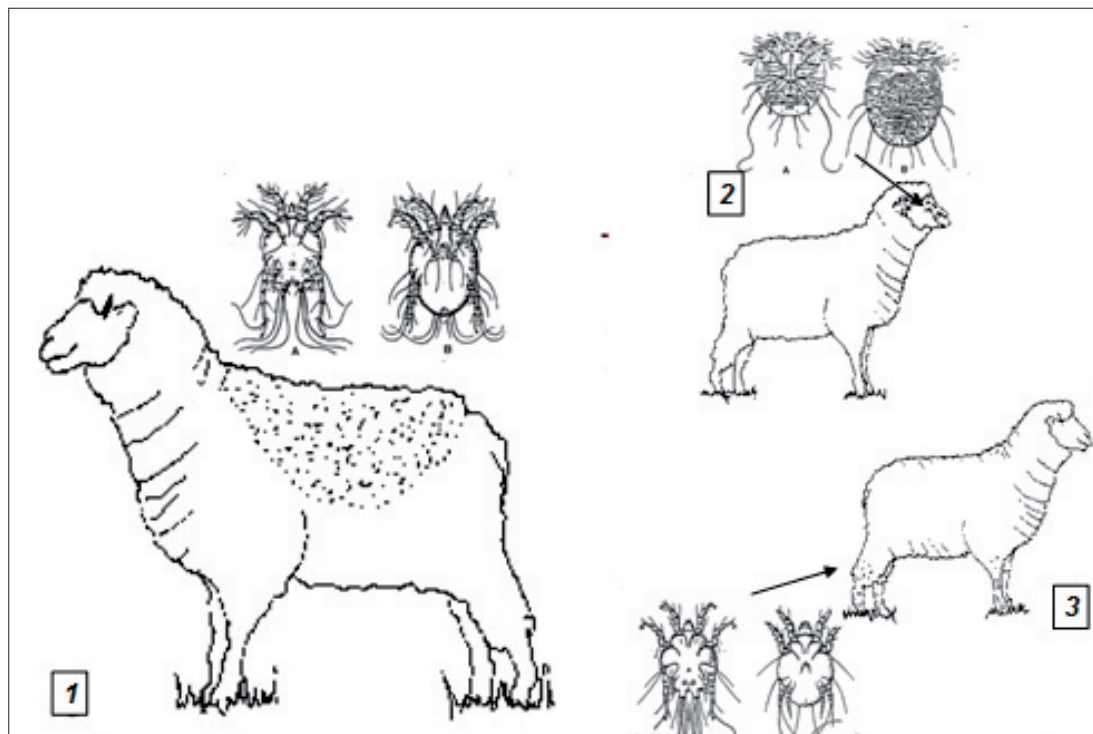


Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Identificación de ácaros de la sarna

La recuperación de los ácaros de la sarna se realiza mediante raspados cutáneos teniendo en cuenta la naturaleza de la lesión y la localización habitual (más o menos profunda) del ácaro en la piel.



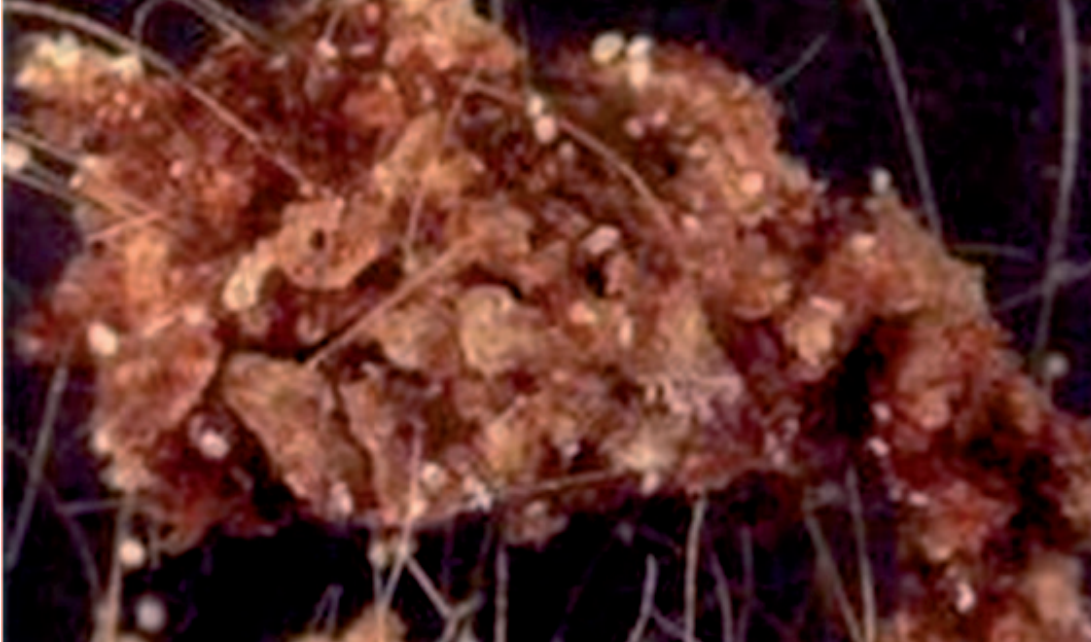
Localización corporal de las sarnas: 1. Psoróptica 2. Sarcóptica 3. Chorióptica (A. Machos / B. Hembras)



Sarna psoróptica crónica en ovinos. Nótese el crecimiento de lana en la región central de la lesión y el desprendimiento en la periferia.

En las lesiones con hiperplasia epidérmica escasa, y en aquellas causadas por ácaros que realizan profundas perforaciones (*Sarcoptes* y *Demodex*), es conveniente sumergir la hoja de bisturí en aceite mineral, tomar firmemente un pliegue de piel entre los dedos y, manteniendo la hoja en ángulo recto con la piel, raspar y arrastrar tejido hasta que comience a sangrar por efecto de la abrasión. La mayoría de los detritos se adherirán al aceite del bisturí, facilitando la recolección de la muestra. La misma se puede transferir a un portaobjetos y observar al microscopio en busca de ácaros, o bien conservar en un envase con tapa para su envío al laboratorio.

En tanto que, en las lesiones epidérmicas con intensa hiperplasia cutánea, y en exfoliación; así como en las lesiones provocadas por ácaros superficiales (*Psoroptes* y *Chorioptes*), resulta más fácil extraer la muestra con cualquier elemento con filo, e incluso tirando de los pelos y arrastrando la piel afectada. En estos casos cabe recordar que la mayor concentración de ácaros se encuentra en la periferia de la lesión, en las zonas “húmedas” constituidas por el exudado y trasudado generado por la acción de los ácaros, en especial del género *Psoroptes*.



La sarna psoróptica es por lejos la más habitual, al punto que se la denomina “sarna común”, y es producida por el *Psoroptes bovis* en los bovinos y *Psoroptes ovis* en lanares. Este género, junto con *Chorioptes*, son los de mayor tamaño y pueden verse a simple vista.

- El raspaje se debe realizar en la periferia de las lesiones, abarcando unos 3 cm² como mínimo, y raspando hasta que la piel quede enrojecida.
- Colectar el material en tubos de ensayo o frascos con tapa.
- Clarificar la muestra con lactofenol de Amann, hidróxido de sodio o de potasio al 10% en frío.
- Dejar actuar 24 h.
- Observar con lupa a 10 aumentos (10X).

PREPARACIÓN DE LACTOFENOL DE AMANN (CSP 100 ml.)

| | |
|---|-------|
| Ácido láctico | 20 ml |
| Ácido fénico (cristales disueltos a baño maría) | 20 ml |
| Glicerina | 20 ml |
| Agua destilada | 40 ml |

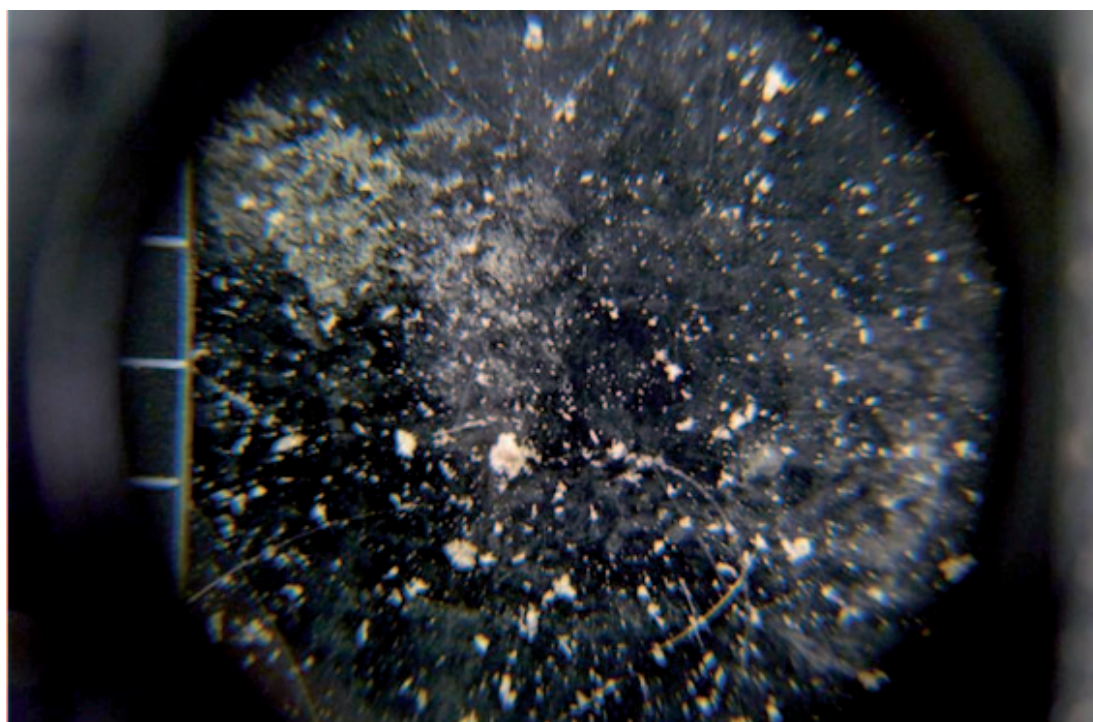
FORMA PRÁCTICA DE SEPARAR LOS ÁCAROS DE LAS COSTRAS

- Tomar un frasco plástico de laterales planos y pintar los mismos de color negro.
- Introducir agua caliente (del termo de mate) y apoyar la muestra completa sobre el frasco.
- Esperar unos minutos y retirar los pelos y costras.

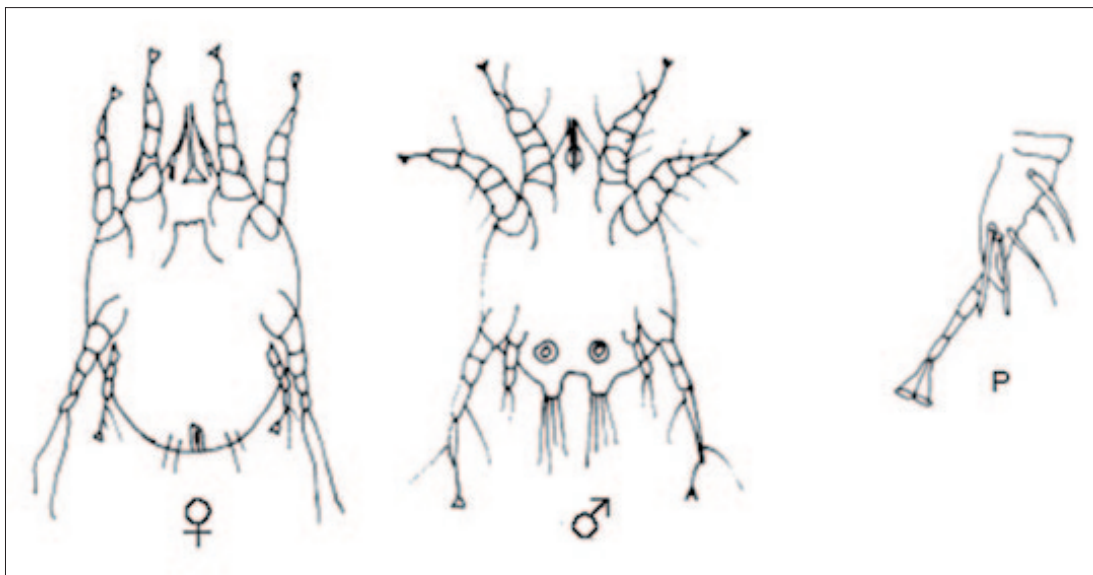
- Sobre la base negra podrán observarse los ácaros en movimiento, que se activan por el calor y abandonan las costrocidades.
- A pesar de su pequeño tamaño, los ácaros se observan como óvalos de color nacarado que se mueven activamente.
- Con una lupa pueden verse los especímenes con mayor detalle, sin embargo el diagnóstico definitivo, conviene realizarlo por microscopía.







En el caso de los ácaros de sarna, los más pequeños de los ectoparásitos, la localización de las lesiones cutáneas orienta el diagnóstico a nivel de familia, pero la diferenciación de género y especie solo es posible mediante la observación microscópica.



Bosquejo de Psoroptes spp.

Especímenes macho y hembra. Nótese la diferente ubicación de las ventosas ambulacrales (Hembra pares 1, 2 y 4, Macho 1, 2 y 3). Se destaca el pedicelo (P) triarticulado característico del género, que sostiene la ventosa ambulacral.



DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Identificación de piojos

12

Identificación
de piojos



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Identificación de piojos

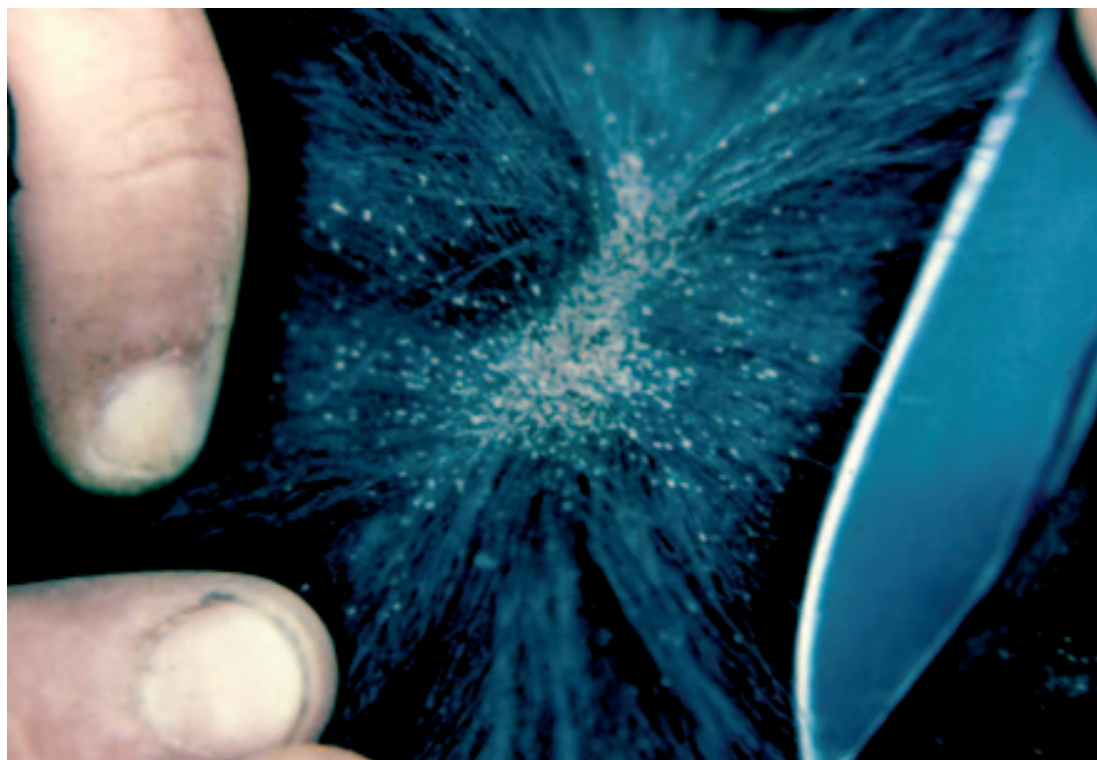
El diagnóstico, al igual que en la sarna, resulta sencillo porque todos los estadios evolutivos se encuentran sobre el hospedador. En tal caso la utilización de una lupa de poco aumento (como la que se observa en las fotos anteriores) puede ser de utilidad.

La sospecha de infección surge al observar los signos característicos de esta parasitosis: prurito, lamido, alopecia. Solo en infestaciones iniciales (otoño) o cuando las condiciones no son propicias (verano) es necesario realizar un examen más detallado, que abarque la revisión cuidadosa de los “sitios preferenciales” de localización de cada género parasitario.

Es importante tener en cuenta el tamaño, la coloración y la forma de la cabeza de los parásitos; la cabeza de los piojos masticadores (*mallophagos*) es de aspecto cuadrangular, en tanto que la de los piojos chupadores (*anopluros*) es triangular. También la presencia de huevos (*liendres*) adheridos al pelo pueden contribuir al diagnóstico.

La clasificación a nivel de familia de los piojos chupadores (*Linognathus*, *Haematophinus* y *Solenopotes*) implica necesariamente trabajar con lentes de mayor aumento que permitan observar la estructura de antenas, patas, ganchos, etc. En tal caso, suele ser necesario extraer los especímenes con una pinza, montarlos sobre un portaobjeto y observarlos mediante lupa estereoscópica y/o microscopio óptico.

En general el diagnóstico no resulta complejo dado que: el tamaño de los adultos varía entre 1.5 mm algo más de 3 mm, los huevos miden aproximadamente 0.6 a 0.8 mm, la coloración de los parásitos contrasta con el pelaje del animal y que tienen buena movilidad, facilitando su visualización.



A. Piojo chupador



B. Piojo masticador

Fuente: Parasitología práctica, Vignau, M. et al. 2005

CLAVE PARA LA DIFERENCIACIÓN ENTRE TIPO DE PIOJOS

| | PIOJOS CHUPADORES | PIOJOS MASTICADORES |
|-----------------------------|---|--|
| LOCALIZACIÓN | Abdomen, pecho, cuello, intermandibular, morro, entrepiernas, periné, garrones | Cuello, escápulas, parrillas costales, dorso desde la cruz hasta la cadera y cola. |
| COLORACIÓN | Oscuros: azul, marrón, pardo | Más claros, Cabeza roja, abdomen con bandas transversales rojizas. |
| ASPECTO DE LA CABEZA | Alargada, más angosta que el tórax, de aspecto triangular. | Redondeada, más ancha que el tórax, aspecto cuadrangular. |
| ANTENAS | Formada por 5 segmentos (artejos) | Formada por 3-5 artejos. |
| ASPECTO DEL CUERPO | Oval, alargado con los extremos en ángulo agudo. | Oval, alargado, con extremos redondeados. |
| TÓRAX | Corto y más ancho que la cabeza Espiráculos respiratorios dorsales Patatas fuertes y robustas, terminan en una uña curva que con el proceso tibial forma un anillo adaptado al tamaño del pelo o lana | Más angosto que la cabeza Espiráculos ubicados en ventral Patatas menos desarrolladas, con uña delgada, adaptadas a la deambulación. |
| ABDOMEN | Ovalado, formado por 6-9 segmentos. Espiráculos respiratorios dorsales | Más largo que la cabeza y el tórax juntos. Espiráculos respiratorios ventrales. |
| BOVINOS | <i>Haematophinus eurysternus</i> (4 mm) "piojo de nariz corta. Color pardo rojizo <i>Linognathus Vituli</i> : (2 mm) "Piojo de nariz larga" . Color negro-azulado. | <i>Bovicola (Damalinaea) bovis</i> : (1,5mm) Coloración amarillento-rojiza (ver arriba) |
| OVINOS | <i>Linognathus ovis</i> : color azulado, se localiza en la cara y orejas <i>Linognathus pedalis</i> : se localiza en las patas, en zonas desprovistas de lana. | <i>Bovicola (Damalinaea) ovis</i> : cabeza más cuadrangular que el del bovino, tamaño similar. |

DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES DE LOS RUMIANTES

Otras observaciones

13



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

PROGRAMA CPS
(Control Parasitario Sustentable)

Otras observaciones

Para la identificación de garrapatas, suele ser suficiente la observación visual de los especímenes sobre el hospedador. El tamaño relativo, la ubicación en el animal, la coloración y el tamaño del escudo dorsal, permiten realizar una primera diferenciación entre garrapatas duras y blandas.

Algo similar ocurre con las miasis, donde básicamente el tipo de lesión, orienta el diagnóstico, y la observación de las moscas adultas, especialmente su coloración y las características de las alas (o su ausencia en el caso de *Melophagus ovinus*) contribuyen al diagnóstico con mayor exactitud.

AGRADECIMIENTOS:

A los Dres Maricel Guzmán, Luis Fusé y a la técnica Gisele Bernat por el aporte de material parasitológico y la colaboración en el trabajo de laboratorio.

Bibliografía consultada

- Area de Parasitología. Fac. Cs. Veterinarias, U.N.C.P.B.A-Tandil.** "Métodos de laboratorio", 1993.
- BALBI, E.A.; EDDI, C.; CARACOSTANTOGOLO, J. y col.** "*Dictyocaulus viviparus*; una revisión". INTA-Castelar, 1990.
- BASSO, N.; CALZETTA RESIO, E.; DUGHETTI, A. y col.** "Fundamentos de parasitología veterinaria". Editorial Hemisferio Sur, 1987.
- CUTULLÉ, CH.; EDDI, C.; CARACOSTANTOGOLO, J.; CASTAÑO ZUBIETA, R. Y SCHAPIRO, J. (1999)** Métodos in vitro para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica. Veterinaria Argentina. Vol. XVI (157): 514-521.
- COLES, G.C; BAUER, F.H.M; BORGSTEEDE, S; GEERST, T.R; KLEI, T.R; TAYLOR, M.A; WALLER, P.J. (1992)** World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasitol, 44: 35-44
- CRISTEL, S. L.; SUÁREZ, V. H. (2006)** Resistencia antihelmíntica: evaluación de la prueba de reducción del conteo de huevos. RIA, 35 (3): 29-43.
- DENNIS, W.R., STONE, W.M., SWANSON, L.E. (1954)** A new laboratory and field diagnostic test for fluke over in feces. J. Am. Vet. Med. As., 124: 47-50.
- DOUVRES, F.W. (1957)** Keys to the identification and differentiation of the immature parasitic stages of gastrointestinal nematodes of cattle. Am. J. of Vet. Res. 18(66): 81-85.
- EDDI, C; CARACOSTANTOGOLO, J; PEÑA, M; SHAPIRO, J; MARANGUNICH, L; WALLER, P; HANSEN, J. (1996)** The prevalence of anthelmintic resistance en nematodes parasites of sheep in Southern Latin america: Argentina. Vet. Parasitol. 62: 189-197.
- EYSKER, M; PLOEGER, H. (2000)** Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. Parasitology 120: 109-119.
- FIEL, C.A; ANZIANI, O; SUÁREZ, V; VÁZQUEZ, R; EDDI, C; ROMERO, J; CARACOSTANTOGOLO, J; SAUMELL, C; MEJÍA, M; COSTA, J; STEFFAN, P.** Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. Vet. Arg. 18 (171): 21-33.
- FIEL, C.; STEFFAN, P.** Guía de procedimientos para el diagnóstico de nematodos en bovinos. Editado por Hoechst Arg. 1994.
- FIEL, C., STEFFAN, P., FERREYRA, D.** Manual para el diagnóstico de nematodos en bovinos. Técnicas de frecuente utilización en la práctica veterinaria: su interpretación. Ed: Bayer Arg., 1998.
- BOWMAN, D; LYNN, R; EBERHARD, M.** "Georgis Parasitología para veterinarios" 8º edición. Ed: Elsevier, 2004.
- HANSEN, J and PERRY, B.** "Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth parasites of ruminants: A Handbook". Ed: FAO_ILRAD, Kenia-Etiopía: 1-171, 1994.
- INTA-Castelar.** "Técnicas de necropsia y de laboratorio aplicadas en el Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias". Ed: Pfizer S.A.C.I.
- JØRGENSEN, R.; OGBOURNE, C.** "*Bovine dictyocaulosis*: a review and annotated bibliography". Commonwealth Institute of Parasitology, 1985.
- Laboratorio de Parasitología, Dpto. de Producción Animal E.E.A. INTA-Balcarce.** "Gastroenteritis verminosa de los rumiantes: Técnicas de diagnóstico", 1992.
- LUKOVICH, A.** "Identificación de las formas adultas de los nematodos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes en la República Argentina". INTA-Castelar, 1981.
- NARI HENRIOUD, A.** Enfoque epidemiológico sobre el diagnóstico y control de resistencia a antihelmínticos en ovinos. Ed. Hemisferio Sur (R.O.U.), 1987.

NUÑEZ, J; MOLTEDO, H.

Sarna psoróptica en ovinos y bovinos. Ed: Hemisferio Sur, 1985.

NIEC, A.

"Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino". INTA, Boletín técnico N° 5, 1968.

Mc KENNA P.B. (1996).

Potential limitations of the undifferentiated faecal egg count reduction test for the detection of anthelmintic resistance in sheep. New Zealand Vet. Jour. 44: 73-75.

OLAECHEA, F.

Técnica de Sedimentación para el diagnóstico coprológico de *Fasciola hepática*. Laboratorio de Parasitología. EEA-INTA Bariloche, 2007.

ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION (FAO).

"Enfermedades de los Animales Domésticos Causadas por Disto-
mas" Ed. FAO, Roma: 1-49, 1994.

PRESIDENTE, P.J.A.

(1985) Methods for detection of resistance to anthelmintics. In: resistance in nematodes to anthelmintic drugs. Ed: Anderson, N. and Waller, P.J. CSIRO Division Animal Health: 13-27.

PRIETO, O. (1994)

Phthiriasis en bovinos. En: Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos: Bases epidemiológicas para su prevención y control. Ed: Nari, A y Fiel, C. Hemisferio Sur: 335-352.

ROBERTS, F; O'SULLIVAN, P. (1949)

Methods for egg counts and larval culture for strongyles infesting gastrointestinal tract of cattle. Aust. J. Agric. Res. 1: 99-102.

ROMERO, J; BOERO, C; VÁZQUEZ, R; ARISTIZABAL, M.T; BALDO, A. (1998)

Estudio de resistencia a antihelmínticos en majadas de la mesopotamia argentina. Rev. Med. Vet. 79 (5): 342-346.

SANGSTER, N. (1999)

Anthelmintic resistance: past, present and future. Int. J. Parasitol. 29: 115-124.

SUAREZ, V.

Diagnóstico de las parasitosis internas en la región de invernada. Interpretación y técnicas. INTA, Boletín de divulgación N(56, 1997.

SOULSBY, E.

"Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos", 7ma.edición. Editorial Interamericana, 1987.

STEFFAN, P; FIEL, A.; COSTA, J.

"Parásitos internos de los bovinos en la pampa húmeda. Editado por Hoechst Argentina S.A., 1991.

TAIRA, N.; ANDO, Y.; WILLIAMS, J.

A color atlas of clinical helminthology of domestic animals. Chikusan publishing Co. Ltd., Japan, 1995.

THIENPONT, D.; ROCHETTE, F; VANPARIJS, O.

"Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico". Ed: Janssen Research Foundation. Bélgica, 1979.

UENO, H.; GUTIERRES, V.

"Manual para diagnóstico de las helmintos de. Rumiantes". Ed: Japan International Cooperation Agency (JICA). Japón, 1983.

VIGNAU, M.; VENTURINI, L.; ROMERO, J.; EIRAS, D.; BASSO, W.

"Parasitología Práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos" 1° edición Ed: Fac. Cs. Veterinarias. U.N.L.P., 2005.

WEYBRIDGE, LABORATORIO CENTRAL VETERINARIO.

"Manual de técnicas de parasitología veterinaria" Ed: Acribia, 1973.



Área de Parasitología
Facultad Cs. Veterinarias
U.N.C.P.B.A TANDIL

