

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Proyecto de Trabajo Final presentado para optar al Grado de
Médico Veterinario

Modalidad: Monografía

TÍTULO

Determinación de los géneros del orden *Strongylida* presentes en
establecimientos de producción equina de la región central de Argentina.

Nombre del Alumno: Lucía Zavattieri

DNI: 36.414.761

Director: MSc. MV. Carlos Motta

Co-Director: MSc. MV. Hernán Lovera

Río Cuarto - Córdoba

Mayo, 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: Determinación de los géneros del orden *Strongylida* presentes en establecimientos de producción equina de la región central de Argentina.

Autor: Lucia Zavattieri

DNI: 36.414.761

Director: MSc. MV. Carlos Motta

Co-Director: MSc. MV. Hernán Lovera

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la
Comisión Evaluadora:

MSc. MV. Natalia Illanes _____

MSc. MV. Guillermo Bagnis _____

Fecha de Presentación:

Secretario Académico

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
Características y descripción del ciclo biológico.	4
Características de las especies.....	10
Grandes Estrongilidos	10
Pequeños Estrongilidos	10
Diagnóstico parasitológico.....	11
Tratamientos antiparasitarios.	12
OBJETIVO GENERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Población estudiada	15
Obtención de las muestras.....	16
Determinación de HPG	17
Coprocultivo de larvas y determinación de los géneros parasitarios	15
Materiales:.....	16
Método:	16
Identificación de larvas infectivas (L3) de nemátodos gastrointestinales:.....	18
Diferencias morfológicas:	19
RESULTADOS.....	21
DISCUSIÓN	23
BIBLIOGRAFÍA	25

INTRODUCCIÓN

Una de las patologías más habituales que pueden afectar a la producción equina son las enfermedades de origen parasitario. Dentro de este grupo de enfermedades, los vermes gastrointestinales son causantes de cuadros subclínicos que provocan pérdidas en el desarrollo corporal y en el rendimiento de los animales (Lamberti *et al.*, 2008).

Características y descripción del ciclo biológico.

Los equinos son huéspedes de un gran número de parásitos nemátodos pertenecientes a la familia *Strongilidae* (Grafico N°1) y en especial de los pequeños y grandes estróngilos (Prada Sanmiguel, 2008), siendo los de mayor importancia por su impacto clínico y patológico. El ciclo de los estróngilos se clasifica como ciclo directo, ya que los equinos se infectan por la ingestión del estadio infestante, larva de tercer estadio (L3), que se encuentra en las pasturas. Esta familia está compuesta por varias especies y su ciclo puede continuar de diferentes formas, algunos penetran por la pared del intestino grueso y migran por diferentes órganos o vasos sanguíneos (Gráficos N°2, 3 y 4), otros se enquistan en la pared del intestino grueso (Duncan, 1974) (Gráfico N°6). Durante su crecimiento y madurez ocasionan varios efectos tales como: a) menor crecimiento, debido a disturbios en la digestión y nutrición; apetito reducido, emaciación, fiebre. b) diarrea, debido a la irritación, alteración de la permeabilidad de la mucosa (absorción y excreción) y al proceso inflamatorio como consecuencia del daño de la mucosa intestinal (enteritis granulomatosas).c) anemia por pérdida de sangre (Fuse *et al.*, 2013).

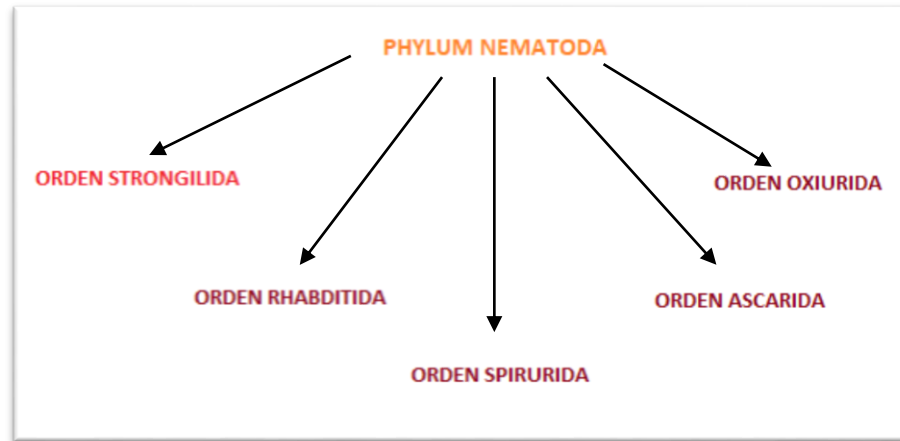


Gráfico N°1: Clasificación del Phylum Nematoda que parasita al equino.

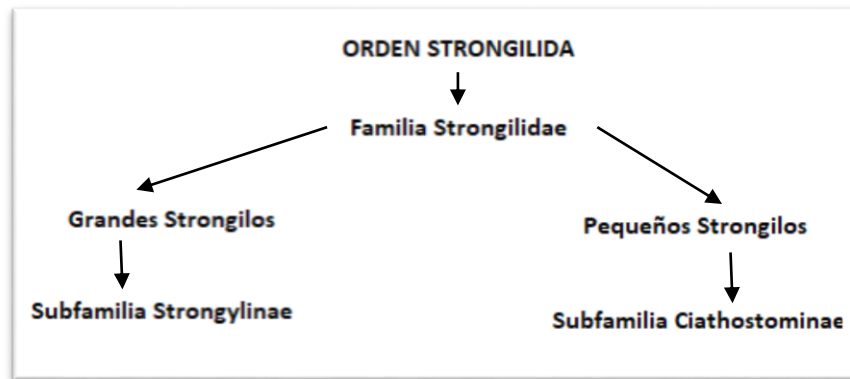


Gráfico N°2: Clasificación de la familia y subfamilias del orden Strongilida que afectan al equino.

Entre las especies de grandes estróngilos que parasitan a los equinos se encuentran: *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900), *S. edentatus* (Looss, 1990), *S. equinus* (Müller, 1780) Estos parásitos migratorios tienen estadios infestantes que son las larvas que se encuentran en las pasturas y las que, una vez ingeridas por los equinos, comienzan una compleja y larga migración por arterias u órganos abdominales para finalmente alcanzar el intestino grueso como adultos jóvenes, donde maduran y copulan. Los huevos son eliminados con la materia fecal y la eclosión de éstos en el ambiente, origina las larvas que contaminan las pasturas, cuya ingestión por parte de los equinos cierra el ciclo biológico. El período de prepatencia, que es el período de tiempo entre que el animal ingiere las larvas infestantes hasta que se detectan huevos en las heces, es especie dependiente oscilando entre 6 meses para *S. vulgaris* y hasta 11-12 meses para *S. edentatus* (Urquhart *et al.*, 1996). Si bien la alimentación de los nemátodos adultos puede causar daños en la mucosa intestinal, síndromes de mala absorción y anemia, la mayor patogenicidad es producida por las migraciones larvales (Urquhart *et al.*,

1996). El más conocido de los grandes estróngilos y el de mayor patogenicidad es *S. vulgaris*, cuya migración larval por la arterias mesentéricas (Foto N°1) puede dar lugar al desarrollo de arteritis tromboembólica y a severos cólicos isquémicos, en muchos casos fatales (Drudge *et al.*, 1979).

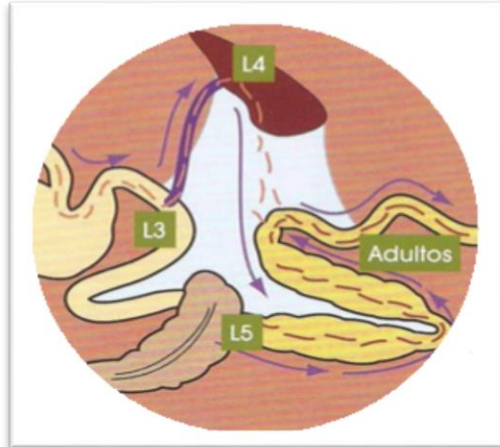


Gráfico N° 3: Ciclo de vida y patogenicidad de *Strongylus edentatus*.

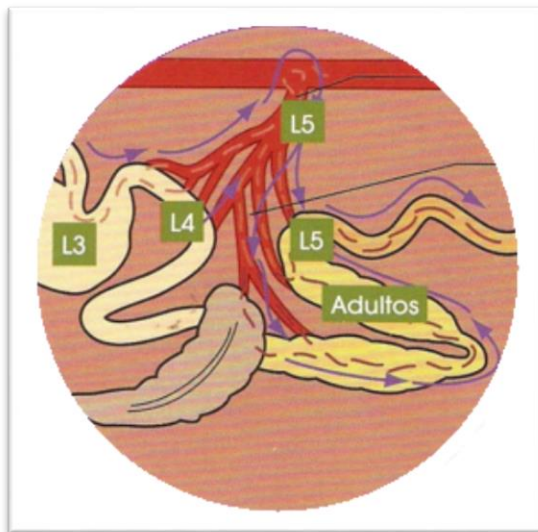


Gráfico N° 4: Ciclo de vida y patogenicidad de *Strongylus vulgaris*.



Gráfico N° 5: Ciclo de vida y patogenia de *Strongylus equinus*.

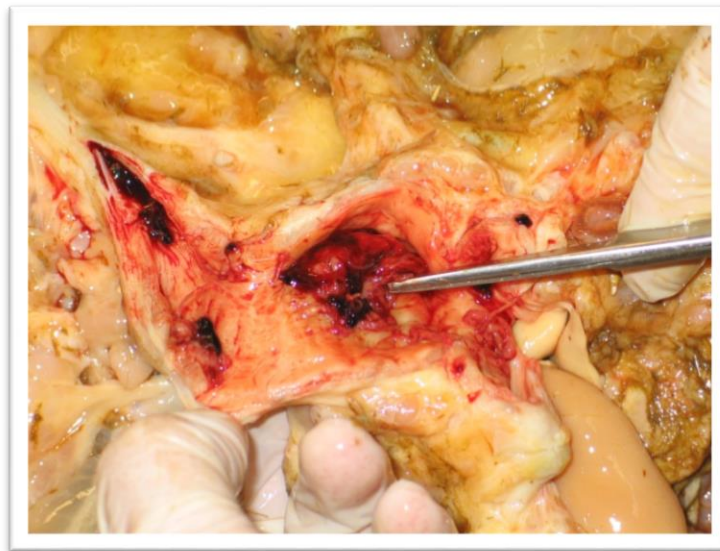


Foto N° 1: Lesión en arterias mesentéricas por migración larvaria de *Strongylus equinus*.

La mayor incidencia de cólicos por estos parásitos se presenta durante y al final del invierno (Prada Sanmiguel, 2008). Debido a que *S. vulgaris* es más frecuente de encontrar que el resto de los grandes estróngilos, debe ser tenido en cuenta en casos de cólicos recurrentes en los caballos como diagnóstico diferencial (Kornas *et al.*, 2009).

Por otro lado, los pequeños estróngilos son un grupo numeroso de nemátodos no migratorios que pertenecen a 13 géneros reconocidos en los equinos (con más de 40 especies) con una prevalencia del 80-100%. La familia *Cyathostominae* agrupa 13 géneros y más de 51 especies. Los géneros más importantes son *Cylicostephanus*, *Cylicocyclus* y

Cyathostomum, los cuales se localizan como adultos en ciego y colon. Actualmente y en todo el mundo, son considerados los parásitos equinos de mayor prevalencia y prácticamente todos los equinos en pastoreo adquieren estos nemátodos (Brady y Nichols, 2009; Nielsen *et al.*, 2014 a; Scott *et al.*, 2015).

En nuestro país, los análisis coproparasitológicos en equinos para determinar el número de huevos por gramo de heces (hpg) y cultivo de larvas, muestran que más del 97% de los huevos observados en animales mayores de dos años pertenecen a los pequeños estróngilos (Laboratorios de Parasitología Veterinaria de Universidad Nacional de Rosario, Universidad Católica de Córdoba y EEA INTA Rafaela; datos no publicados). Muchas de las especies que componen este grupo no desarrollan inmunidad protectora y, por lo tanto, son comunes en todas las categorías de equinos (Von Samson Himmelstjerna, 2012). A diferencia de los grandes estróngilos, no realizan migraciones extraintestinales y las larvas permanecen enquistadas en la mucosa y submucosa del intestino grueso para luego emerger, madurar y reproducirse, cerrando de este modo el ciclo de vida. Una proporción de las larvas puede temporariamente detener su desarrollo en la mucosa y submucosa (inhibición larval similar a la observada en nemátodos de rumiantes) por períodos prolongados. El período de prepatencia promedio es de aproximadamente dos meses aunque puede variar considerablemente en función de la inhibición larval (Urquhart *et al.*, 1996), este mecanismo favorece la supervivencia de la especie ya que, en épocas de sequía mientras que las larvas que atraviesan el ciclo de vida libre mueren, las que están enquistadas sobreviven, además de impedir que los antiparasitarios actúen sobre ellas en ese estadio. En general, los adultos son de patogenicidad moderada a leve, pero un severo síndrome clínico denominado ciatostomiasis larval puede ocurrir cuando existe una masiva y sincronizada reactivación de las larvas inhibidas lo que produce inflamación y severas alteraciones de la mucosa con diarreas profusas (Love *et al.*, 1999), colitis e hipoproteinemias que pueden ser fatales, causado por la emergencia brusca y masiva de larvas enquistadas en la mucosa del ciego y colon que suele suceder al final de invierno o principio de la primavera, los casos más graves pueden causar mortalidad del 50-60%. Los caballos jóvenes (menores de 6 años) suelen correr el mayor riesgo (Gráfico N° 6).



Gráfico N° 6: Ciclo de vida y patogenicidad de los pequeños estróngilos.

La forma propagativa de todas estas especies (pequeños y grandes estróngilos) es a través del huevo tipo estróngilido (Foto N°2), al igual que el resto de los integrantes de la familia *Strongylidae*. Por lo tanto el diagnóstico de la presencia de estadios adultos de *S. vulgaris* en la mucosa del intestino grueso se realiza mediante la técnica de cultivo de larvas, Henriksen y Korsholm (1983) modificada, como se detallará más adelante.



Foto N° 2 Huevo tipo estróngilido.

Características de las especies

Grandes Estrongilidos

La cápsula bucal de *Strongylus vulgaris*, tiene forma oval con dos dientes en forma de raqueta en el lado dorsal de la base. El macho mide de 14 a 16 mm y la hembra de 20 a 24 mm de largo. Se encuentra en el intestino grueso de los equinos (Loos, 1990). *Strongylus edentatus* es de mayor tamaño que *S. vulgaris*, midiendo entre 2.5 a 4.5 cm de largo, y aparentemente es más prevalente (Reynemeyer & Nielsen, 2013). El tercer estadio larval de *S. edentatus* puede ser diferenciado de *S. vulgaris* o de los *cyatostominos*, pero es muy similar al tercer estadio larval del género *Triodontophorus* (McCraw y Slocombe, 1978), el cual pertenece a los *Grandes Estróngilos*, pero al ser menos patógeno no se lo tiene en cuenta habitualmente. La cápsula bucal de *S. edentatus* tiene forma de copa y no posee dientes (Loos, 1990). *Strongylus equinus* también se encuentra en el intestino grueso de equinos. La cápsula bucal tiene forma oval alargada, en la base hay un diente grande con la punta bífida y dos dientes pequeños en posición subventral. El estado larval es de color gris rojizo. El macho mide 25 a 26 mm y la hembra de 38 a 47 mm de largo. Este parásito se ha vuelto extremadamente raro de ver en manadas domésticas, y normalmente sólo se informa en regiones o poblaciones equinas con un uso antihelmíntico escaso o muy escaso (Reynemeyer & Nielsen, 2013). (Gráfico N°7)

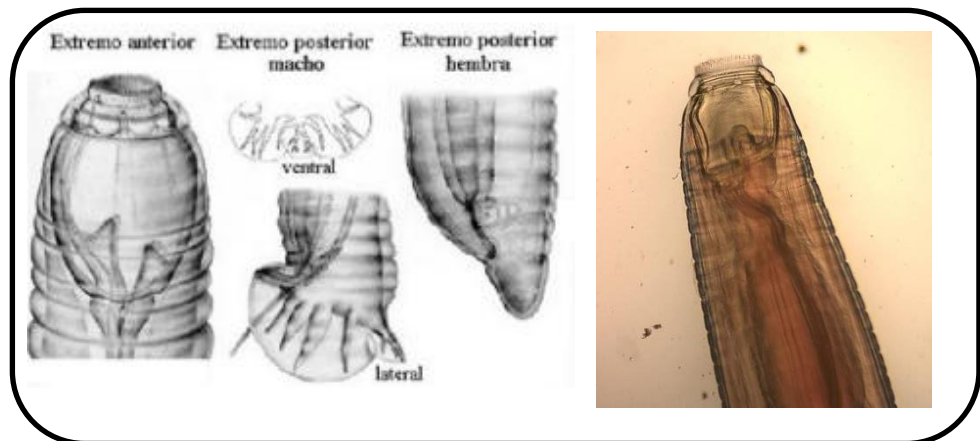


Gráfico N° 7: Morfología de los grandes estrongilos. Imagen extraída de Lichtenfels et al, 2008.

Pequeños Estrongilidos

Al igual que en otros nematodos, los pequeños estrongilos tienen el cuerpo cubierto de una cutícula flexible pero bastante resistente. En este género la cutícula muestra una estriación circular característica. Los vermes tienen un tubo digestivo con dos aberturas, la

boca y el ano. Todas las especies del género tienen una cápsula bucal característica, bien formada y casi esférica, en numerosas especies dotada de dientes basales para cortar los tejidos del hospedador. Se alimentan de tejidos del órgano del hospedador o de la sangre que surge al dañar pequeños vasos sanguíneos.

Tienen un sistema nervioso pero carecen de órganos excretores y de sistema circulatorio, es decir, no tienen ni corazón ni vasos sanguíneos. Los ovarios de las hembras son grandes y se abren al exterior por una abertura llamada vulva. Los machos tienen una bolsa copuladora con dos espículas para fijarse a la hembra durante la cópula. La morfología de las espículas es propia de cada especie y sirve para distinguirlas. (Gráfico N°6). Los parásitos adultos alcanzan de 4,8 a 13 mm de longitud, dependiendo de la especie., son muy finos y de color rojizo.

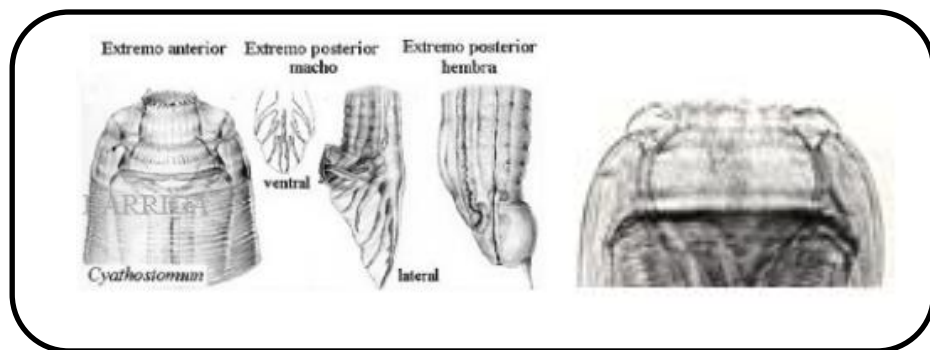


Gráfico N° 8 Morfología de los pequeños estrombilos. Imagen extraída de Lichtenfels et al, 2008

Diagnóstico parasitológico.

El diagnóstico de las enfermedades parasitarias presenta dificultades como consecuencia de la escasa correlación entre la cantidad de huevos en materia fecal y larvas enquistadas, con respecto a la presencia de síntomas clínicos (Lamberti, 2008). Éste se realiza mediante el conteo de huevos a través de técnicas como McMaster (Gordon & Whitlock, 1939), Stoll (Stoll, 1923) y la técnica de Wisconsin (Cox y Todd, 1962) (Ilustración 1). A su vez, el cultivo de heces (coprocultivo) y la subsecuente identificación de las L3, mediante el cultivo de larvas, tienen aplicaciones prácticas tanto para investigación como para la clínica diaria, diferenciando la prevalencia de cada uno de estos parásitos. Han

sido informadas diferencias sutiles entre L1 y L2 (Ogbourne, 1971), aunque el diagnóstico nunca se basa en la examinación de estos estadios. La L3, no obstante, tiene características morfológicas mucho más distintivas entre cada género y especie de estróngilos (Russell 1948; Bevilaqua *et al.* 1993).

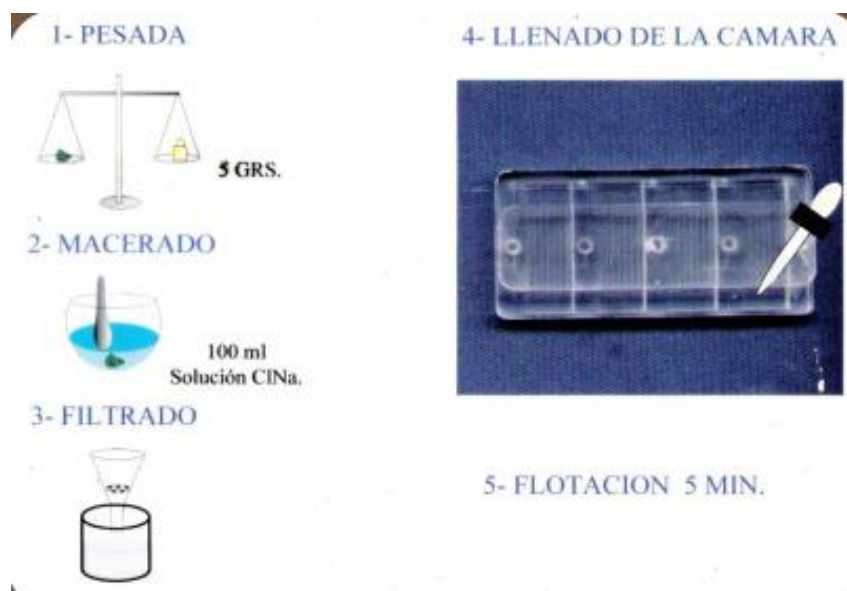


Ilustración 1: Técnica McMaster y cámara donde se lleva a cabo el conteo. La foto muestra los pasos a seguir en la técnica de McMaster, en los cuales se esquematiza el pesaje de materia fecal, seguido del macerado con solución sobresaturada de ClNa y posterior filtrado. La cámara se llena y se deja reposar durante 5 minutos así las estructuras ovígeras flotan pudiendo ser observadas luego con el microscopio óptico.

Tratamientos antiparasitarios.

Desde la introducción de los antihelmínticos modernos, muy especialmente de la ivermectina, los grandes estróngilos están en retirada y actualmente su prevalencia es muy baja en poblaciones equinas que reciben algún tipo de tratamiento antihelmíntico (Herd, 1990) e incluso erradicadas (Reinemeyer y Nielsen, 2009) en establecimientos que realizan más de un tratamiento al año con lactonas macrocíclicas tales como ivermectina o moxidectina. Los antiparasitarios mayoritariamente utilizados en la Argentina para el control de los nematodos de los equinos incluyen principalmente a los bencimidazoles, siendo los más utilizados mebendazole, febendazole, oxbendazole, y las lactonas macrocíclicas (ivermectina y moxidectina). La primera de estas lactonas es probablemente la droga antiparasitaria más utilizada en los equinos en la Argentina, como regla general presenta una

mayor actividad contra artrópodos aunque menor persistencia nematocida que la moxidectina (Xiao *et al.*, 1994; Schumacher y Taintor, 2008). Existe también un tercer grupo de nematocidas, el de las tetrahidropirimidinas con una formulación registrada que contiene pirantel, pero llamativamente y a diferencia de lo observado en otras partes del mundo como por ejemplo América del Norte (Kaplan, 2004; Owen *et al.*, 2007), Europa (Traversa *et al.*, 2009; Traversa *et al.*, 2012) y Oceanía (Scott *et al.*, 2015) el uso de esta droga en los equinos ha sido hasta el presente poco común en nuestro país. Todos los antihelmínticos mencionados se utilizan como nematocidas de amplio espectro para el control de grandes y de pequeños estróngilos con actividad reducida frente a larvas inhibidas de estos últimos. En general, la mayoría de los tratamientos contra parásitos internos en equinos de nuestro país se realizan bajo esquemas prefijados o en forma esporádica y son muy poco utilizados los análisis coproparasitológicos para la toma de decisiones en los programas de control o para evaluar la eficacia de estos, así como también para garantizar la necesidad de su uso. Sin embargo, esta metodología está dejando de usarse y generalmente los antihelmínticos se administran sin considerar ninguna de las dos premisas.

Desgraciadamente, la presión de selección debida a la administración frecuente de antihelmínticos ha favorecido el desarrollo de resistencia de los *cyatostominos* a los bencimidazoles (BZ) y a las sales de pirantel. Además, muchos autores consideran que la resistencia a la ivermectina o a la moxidectina es inevitable. La preocupación por la resistencia antihelmíntica es uno de los factores que hacen necesaria la reevaluación de los métodos actuales de control antiparasitario en los caballos y el veterinario debe considerar la importancia de los efectos adversos potenciales de éstos fármacos en pacientes con enfermedad clínica.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es reconocer los distintos géneros y especies del orden *strongylida* presente en la materia fecal de los equinos, identificando que tipo de parásito está presente en la región estudiada; por otro lado se intenta proponer o asesorar en el correcto uso de antiparasitarios en cada establecimiento al igual que recordarle al médico veterinario patologías que puedan estar relacionadas con estos vermes y cómo llegar a su diagnóstico definitivo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los géneros y especie del orden *Stongylida* que estén presentes en establecimientos equinos de la zona centro del país.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las diferentes estructuras parasitarias presentes mediante coprología en los establecimientos relevados.
2. Identificar morfológicamente las poblaciones de larvas mediante coprocultivos.
3. Poner a punto las técnicas utilizadas en el diagnóstico copoparasitológico de equinos.
4. Asesorar a los productores sobre el correcto uso de antihelmínticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población estudiada:

Se trabajó con once establecimientos, pertenecientes a las provincias de Buenos Aires, Córdoba, San Luis y Santa Fe, los mismos se dedican a diferentes actividades ecuestres tales como cría, polo, jineteada y pensionado de equinos.

Los establecimientos estudiados fueron escogidos porque sus propietarios tenían algún tipo de vinculación con el equipo de investigación.

Todos accedieron a realizar los análisis de diagnóstico parasitológico propuestos, ya que en ningún caso se hacían estudios coprológicos previa desparasitación ni tampoco conocían la prevalencia parasitaria del establecimiento.

En todos los casos se realizó un informe con los resultados obtenidos y se les hizo una devolución a los propietarios, los cuales se mostraron interesados para realizar futuros estudios parasitológicos previo tratamiento con antihelmínticos.

Tabla 1: Establecimientos/Localidades estudiados, resumiendo el tipo de producción que realiza, hectáreas dedicadas a la producción y número de individuos.

Establecimiento/ localidad	Hectáreas dedicadas a los equinos	N° animales muestreados	N° animales estudiados	Tipo de producción	Campo
Corral de Bustos	40	24	13	Caballos Criollos Chilenos	Mixto
Venado Tuerto	70	15	4	Caballos Cuarto de Milla	Equino
Carreros	1	14	5	Mestizos para tiro de carro	Mixto
Ranquel	100	46	10	Pura sangre de carrera	Equino
Tazioli	30	25	8	Pura sangre de carrera	Equino
Aniceto	20	21	3	Caballos de Salto	Mixto
Achiras	10	17	3	Caballos Criollos	Mixto
La Escondida	5	6	3	Pensionado de equinos	Equino
Los Pinos	50	36	8	Caballos de Polo	Mixto
Santa Rita	15	10	3	Caballos de Polo	Mixto
Sol de Agosto	200	22	4	Caballos de Polo	Equino
López	200	44	8	Caballos para Jineteada	Mixto

Los establecimientos se encuentran en las siguientes coordenadas:

- | | |
|---------------------|---------------------------|
| 1. Corral de Bustos | 33°17'01.2"S 62°16'18.9"W |
| 2. Venado tuerto | 33°42'51.3"S 62°00'43.4"W |
| 3. Carreros | 33°07'03.9"S 64°20'17.8"W |
| 4. Ranquel | 33°10'55.6"S 63°47'24.0"W |
| 5. Tazioli | 33°37'54.5"S 64°36'54.4"W |
| 6. Aniceto | 33°24'01.5"S 63°35'58.5"W |
| 7. Achiras | 33°11'17.1"S 64°56'44.0"W |
| 8. La Escondida | 33°06'21.9"S 64°24'31.7"W |
| 9. Los Pinos | 33°01'54.5"S 64°23'08.3"W |
| 10. Santa Rita | 31°47'54.9"S 64°20'25.2"W |
| 11. Sol de Agosto | 34°29'11.2"S 58°55'01.1"W |
| 12. López | 33°44'23.5"S 65°20'07.6"W |

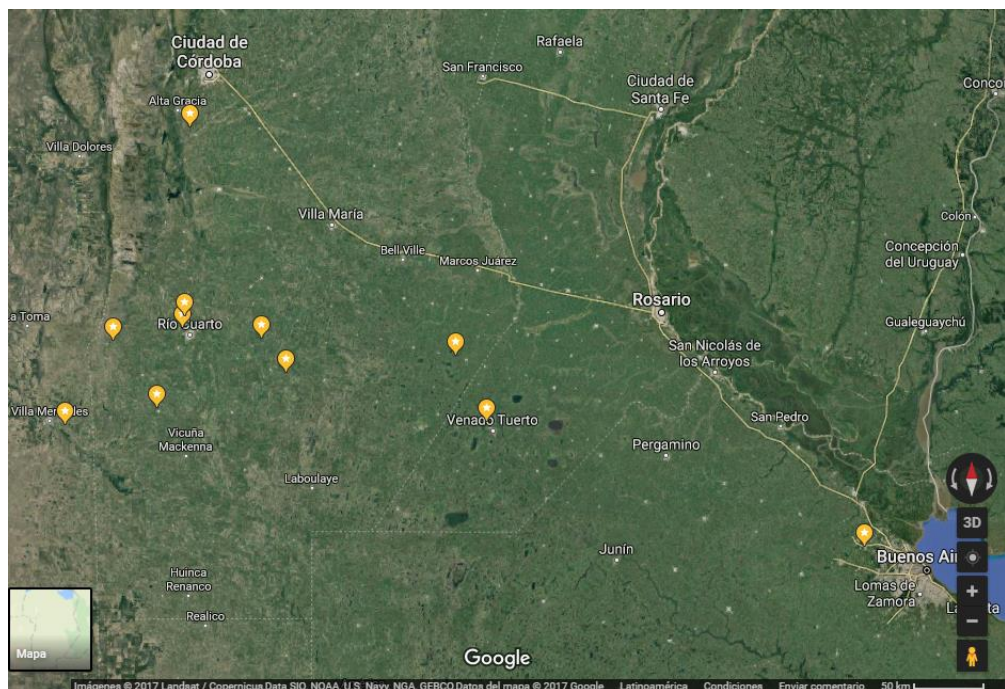


Foto N° 3: Establecimientos muestreados en la región central de Argentina

Obtención de las muestras

Se colectaron muestras de materia fecal equina, en bolsas de nylon a las cuales se les extrajo el aire y se anudaron. Las muestras fueron identificadas en forma individual y se colocaron en una conservadora de telgopor con refrigerantes, evitando así la posible eclosión de los huevos, para luego ser remitidas al laboratorio del Departamento de Patología Animal de la FAV, donde fueron procesadas.

Determinación de HPG

Para determinar el valor de HPG las muestras fueron evaluadas mediante la técnica de McMaster modificada por Roberts y O'Sullivan (1949). A continuación se describe la técnica utilizada: se toma 5gr de materia fecal y se disuelve en 100 ml de solución sobresaturada de NaCl o solución de Willis (Foto N°4,5,6 y 7), se filtra y de la solución resultante se toma una alícuota que se colocó en la cámara de McMaster (Foto N°8). Se deja reposar cinco minutos para que los huevos floten y se peguen a la parte superior de la cámara para luego poder observarlos en microscopio óptico con objetivo de 10x y se procede a contar la cantidad de estructuras ovígeras tipo estrongilido.



Foto N° 4: Materiales utilizados para realizar el HGP



Foto N° 5: Pesaje de la materia fecal.



Foto N° 6: Disolución de la materia fecal en CINA



Foto N° 7: Filtrado de la mezcla de materia fecal y la solución de CINA



Foto N° 8 Llenado de la cámara de Mc Master

La cámara de McMaster cuenta con 4 celdas, cada una dividida por 5 líneas para facilitar el conteo de huevos. Para obtener resultados más aproximados al valor real y aumentar la sensibilidad de la técnica, se deben contar la mayor cantidad de celdas posibles. El resultado del conteo se multiplica por un factor multiplicador que varía de acuerdo a la cantidad de celdas contadas, 1 celda = x40, 2 celdas = x20 y 4 celdas = x10. Esto se fundamenta en que al utilizarse una dilución de 1:20, quedaría 0,1gr de materia fecal en cada cámara, entonces para lograr la equivalencia en 1gr debemos hacer este cálculo.

Aquellas muestras con un valor igual o superior al número de 400 HPG fueron seleccionadas para realizar el cultivo de larvas, el resto de las muestras no se tuvieron en cuenta, al igual que los establecimientos que dieron valores de HPG menores a 400. Dicho HPG se realizó mediante la técnica de Henriksen y Korsholm modificada.

Coprocultivo de larvas y determinación de los géneros parasitarios

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 estado infestante L3. El éxito del cultivo depende de tres factores: humedad, temperatura adecuada y oxigenación. Se recomienda para su realización que las heces a cultivar no deben estar

demasiado secas por lo que deben humedecerse, si hace falta, con agua sin restos de cloro. Finalmente, se agrega un elemento inerte para permitir la oxigenación del material cultivado, por ej. telgopor granulado.

A continuación se describe la técnica empleada:

Materiales:

1. Vasos plásticos descartables de aproximadamente 200 cm³ de capacidad.
2. Gasa común.
3. Recipiente para mezclar la materia fecal y el telgopor.
4. Telgopor granulado.
5. Vaso cónico.



Método:

Se pesan 5 gr de materia fecal, los cuales se colocaron individualmente en un recipiente para mezclar la materia fecal con el telgopor granulado, se agregó agua para lograr la humedad deseada y se mezcló hasta lograr una consistencia pastosa.

Luego se cortó el vaso plástico a un centímetro del borde superior, siguiendo su circunferencia. La parte inferior (A) es la que alojó las heces a cultivar junto con el telgopor y se extendió una gasa de 5 cm por 5 cm. Se acopló invertida la otra parte del vaso (B) sobre (A) tratando que la gasa quede firme y sujete el material a cultivar. (Ilustración 2)

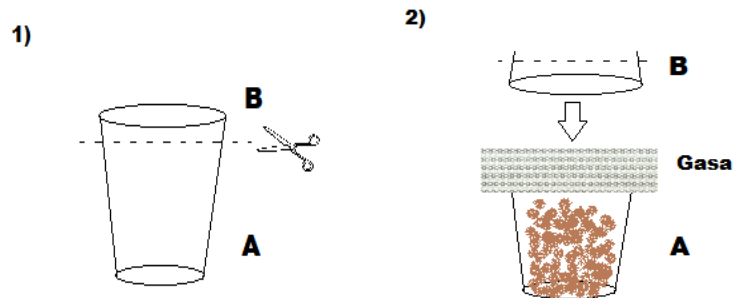


Ilustración 2: Posición de las partes del vaso

Finalmente, se introduce (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. (Ilustración 3)

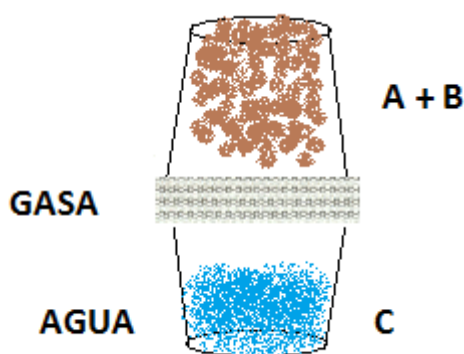


Ilustración 3: Posición de los vasos.

Se incubó el cultivo durante 15 días a 20-22° C, evitando que pierda humedad. Finalizada la incubación, se retiró el vaso (C), se transfirió el cultivo (A+B) a un vaso cónico, habiendo atado los extremos de la gasa y se sumergió en agua. Se dejó decantar 24 hs.

Para recuperar las larvas infectantes, concentradas en el fondo del vaso cónico, se tomó con una pipeta Pasteur desde el fondo del vaso cónico y se transfirió a un tubo cónico de 15 cm hasta su lectura.

Para realizar la identificación de las larvas, se tomó una pequeña alícuota, se la colocó en un portaobjetos y se observó que hubiera larvas (Foto 1). Luego se colocó una pequeña gota de lugol, con el objetivo de matar las larvas para poder ver en detalle su

morfología e identificarlas. Se determinaron 100 L3 por cultivo y se aplicaron los porcentajes obtenidos a los conteos de huevos por gramo (HPG) de materia fecal.



Foto N° 9: Larvas obtenidas del coprocultivo en el laboratorio de Patología Animal de la FAV, UNRC, observadas con aumento 10x en un microscopio óptico.

Identificación de larvas infectivas (L3) de nemátodos gastrointestinales:

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 rabbitiforme, 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, lo que permite que se tiñan más intensamente con lugol, y su boca se abre al exterior.

Para el examen y clasificación de larvas infectantes, es conveniente iniciar la observación con menor aumento (10 X) (Foto 1). 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.



Foto N° 10: Identificación de larva de un pequeño Strongylo. Se aprecia el largo total y el de la cola, lo que permite su clasificación. Por su doble membrana, no se tiñen o lo hacen muy débilmente. Obtenida de un cultivo realizado en el Laboratorio de Patología Animal de la FAV, UNRC, vista con aumento de 40x con un microscopio óptico.

Diferencias morfológicas:

Entre estas se evidencian las diferencias cuando se tiñen las estructuras con iodo o lugol. Las larvas de vida libre poseen una única cutícula por lo que la tintura penetra dentro del parásito y se observan marrones, mientras que las parasitarias al poseer una doble cutícula el iodo o lugol no ingresa.

Entre las tres especies parásitas descritas al comienzo del presente informe, las características morfológicas con las cuales podremos definir de qué especie se trata son:

A. Largo de cola:

1. T. axei: 40 μm (cola corta)



Foto N° 11: Trichostrongylo axei. Foto obtenida en el Laboratorio de Patología Animal de la FAV, UNRC, con aumento de 40x en un microscopio óptico.

2. Strongylus: 200 μm hasta 350 aprox (cola larga)



Foto N° 12: Pequeño estrogilido. Foto obtenida en el Laboratorio de Patología Animal de la FAV, UNRC, con aumento de 40x en un microscopio óptico.

B. Células intestinales:

1. T. axei: 16 células
2. Strongylus:
 - I. Pequeños strongylus: 8 células
 - II. Grandes strongylus:
 - Vulgaris: 28- 32 células
 - Equinus: 16 células
 - Edentatus: 20 células



Foto N° 13: Strongylus vulgaris. Foto obtenida en el Laboratorio de Patología Animal de la FAV, UNRC, con aumento de 40x en un microscopio óptico.

RESULTADOS

Como era de esperar, los *Pequeños Estróngylos* estuvieron presentes en el 100% de los establecimientos y prácticamente en la totalidad de las poblaciones estudiadas, a diferencia de *S.vulgaris*, el cual solo se presentó en el 25% de los establecimientos, esto puede deberse a los tratamientos que se realizan con ivermectina, ya que este parásito es susceptible a la droga. De todas formas, no se debe pasar por alto que si bien la prevalencia es baja, este nemátodo puede ser letal para los equinos ocasionando grandes pérdidas a los productores y debe tenerse en cuenta a la hora de aplicar los tratamientos correspondientes. Por otra parte, es llamativa la alta prevalencia de *S.equinus* (58%), presentándose en más de la mitad de los establecimientos y en menor cantidad *S.edentatus* (41%), esto es un llamado

de atención, ya que pocas veces son tenidos en cuenta en las desparasitaciones y, como se dijo antes, pueden ser causantes de patologías graves.

T.axei, en contraposición se encuentra en escasos establecimientos y no supone un riesgo para los equinos manteniéndolo en bajas cargas.

A continuación se mostrarán tablas con los datos obtenidos en cada establecimiento:

Tabla 2: Prevalencia de parasitosis de los equinos en los distintos campos. *

ESTABLECIMIENTO	PARÁSITOS VISUALIZADOS					
	TA	PS	PG	Seq	Sed	Sv
Corral de Bustos		100%			9,00%	
Venado Tuerto		100%				
Carreros		100%		20,00%		
Ranquel		100%				
Tazioli		100%		63%	12,50%	
Aniceto		100%				
Achiras		100%				
La Escondida	67%	100%		67%		33,30%
Los Pinos	11,11%	88,88%	33,33%	55,50%	33,33%	22,22%
Sta. Rita		100%		66,66%		
Sol de Agosto	25%	100%	75%	50%	25%	
López		100%		62,50%	25%	12,50%

Tabla 3: Valores promedios de las parasitosis según cada establecimiento.

ESTABLECIMIENTO	PORCENTAJE PROMEDIO DE PARASITOS POR CAMPO					
	TA	PS	PG	Seq	Sed	Sv
CORRAL DE BUSTOS		99,60%			4,00%	
VENADO TUERTO		100,00%				
CARREROS		99,20%		4,00%		
RANQUEL		100,00%				
TAZIOLI		98,25%		2,6		1%
ANICETO		100,00%				
ACHIRAS		100,00%				
LA ESCONDIDA	1,50%	87,00%		10,00%		16,00%
LOS PINOS	9,55%	92,87%	5,00%	5,00%	1,66%	10,50%
SANTA RITA		98,66%		2,00%		
SOL DE AGOSTO	1,00%	81,50%	7,66%	22,00%	6,00%	
LOPEZ		95,37%		4,40%	4,50%	3,00%

*Referencias: TA (*Trichostrongylus axei*); PS (*Pequeños Strongylus*); PG (*Gyalocephalus: pequeño strongylo*); Seq (*Strongylus equinus*); Sed (*Strongylus edentatus*); Sv (*Strongylus vulgaris*).

DISCUSIÓN

Como menciona *Scott* en su publicación respecto a la alta prevalencia a nivel mundial de pequeños estróngilos, se corroboró con los datos obtenidos, que la totalidad de los establecimientos presentaron esta clase de vermes, al igual que los datos obtenidos por los Laboratorios de Parasitología Veterinaria de Universidad Nacional de Rosario, Universidad Católica de Córdoba y EEA INTA Rafaela, en donde se afirma la presencia de pequeños estróngilos con un 97% de prevalencia. Esto puede deberse a la resistencia antihelmíntica de estos parásitos, pero esto sería motivo de otro estudio para corroborarlo.

Kornas publicó que en los establecimientos estudiados no se pudo corroborar que dentro del grupo de grandes estróngilos, *S. vulgaris* fuera el más prevalente, al igual que se demuestra en este estudio; acorde a lo observado en este trabajo *S.equinus*, fue uno de los más observados. Esto podría deberse a que en este estudio se utilizó un número bajo de establecimientos, que a su vez se dedicaban a actividades diferentes y éstos estaban ubicados en zonas geográficas totalmente distintas. Para corroborar lo descripto en esta investigación

debería ser necesario unificar las regiones, actividades ecuestres y aumentar el número de individuos a estudiar.

Probablemente, ya que los tratamientos antiparasitarios utilizados en la mayoría de las poblaciones de Argentina se basan en el uso de lactonas macrocíclicas, siendo la más conocida por los productores la ivermectina, los grandes estróngilos tienden a disminuir su presentación y actualmente su prevalencia es mucho menor y a veces hasta nula respecto a los pequeños estróngilos, que continúan siendo los helmintos predominantes.

Es de suma importancia tener en cuenta estos resultados a la hora de emplear tratamientos y métodos preventivos, ya que, si bien la prevalencia de pequeños *Strongylos* es muchísimo mayor respecto al resto de los parásitos, no se descarta la presencia de grandes *Strongylos*, los cuales pueden llevar a cuadros riesgosos para la vida de los equinos y que muchas veces se los ignora o confunde con otras entidades patológicas por el hecho de ignorar la presencia de estos vermes. Por esto, se recomienda la utilización de todos estos métodos de diagnósticos (*McMaster* y *cultivo coproparasitológico*), ya que son simples y nos brindan información certera de las poblaciones equinas. Éstos tienen como ventajas que al conocer el tipo de parásito que prevalece en el establecimiento es mucho más fácil llevar a cabo un tratamiento, prevención, y así, evitar resistencia por el uso indiscriminado de antiparasitarios que resultan innecesarios muchas veces. De esta forma se aconseja tratar sólo a aquellos individuos que sean altos eliminadores de huevos, los cuales corresponden a un 20% de la población; llevar mayor control parasitario del haras, ya que, como se ha visto en el presente estudio, los valores no concuerdan con lo que afirman algunos autores anteriormente citados; un menor costo para el productor frente a la compra de antiparasitarios para todos los equinos del establecimiento, porque como se dijo previamente solo habría que desparasitar a los animales con altos recuentos de hpg, aprovechando así el máximo potencial del antiparasitario y su correcto empleo adecuándose a las diferentes estaciones del año.

BIBLIOGRAFÍA

ANZIANI, O.S.; MUCHIUT, S.; COOPER, L.; CERUTTI, J. 2016. The small strongyles (cyathostomes) and benzimidazoles. Persistence of status of resistance after nine years without the use of these drugs and efficacy of ivermectin against this parasite population. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S52-S53.

ARÁNZAZU M. M.; Francisco A. Rojo Vázquez. 87 Q&A sobre parasitología equina; Libro de preguntas y respuestas.

ARDUSSO, G.; Cerutti, G.; Caffè, G.; Cooper, L.; PIRANI L.; Anziani, O. 2016. Anthelmintic resistance in equine nematodes in Argentina. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S52. Armstrong.

BERKOW, R. 2000. Manual Merck de Veterinaria. 5ta ed. Ed. Océano. BARCELONA, ESPAÑA.

BEVILAQUA, C.M.L., Rodrigues, M. de L. & Concordet, D. 1993. Identification of infective larvae of some common nematode strongylids of horses. *Veterinary Medical Review*, 144, 989 – 995.

BRADY, H. A. y Nichols, W. T. 2009. Drug Resistance in Equine Parasites: An Emerging Global Problem. *Journal of Equine Veterinary Science* _ Vol 29, No 5

CERUTTI, J.; COOPER, L.; CAFFE, G.; CERVILLA, N.; MUCHIUT S.; ANZIANI, O. 2012. Resistencia de los pequeños estrongílicos (grupo ciatostoma) a los benzimidazoles en equinos del área central de Argentina. 41-42.

COX DD y AC TODD. 1962. Survey of gastrointestinal parasitism in Wisconsin dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 141:706-709.

DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T.; SZATO, J. 1966. Pathogenesis of migrating stages of helminthes with special reference to *Strongylus vulgaris*. En: SOULSBY, E.J.L. (editor). *Biology of parasites. Emphasis on veterinary parasites*. Nueva York y Londres; Academic Press Inc. pp. 199-214.

DRUDGE, J.H. 1979. Clinical aspects of *strongylus vulgaris* infection in the horse. Emphasis on diagnosis, chemotherapy and prophylaxis. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.* 1: 251-265.

DUNCAN, J.L. 1974. Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infections in the horse. *Vet Rec.* 94: 337 – 345

FUSÉ, L.; SAUMELL, C.; IGLESIAS, L. 2013. Variación estacional del parasitismo interno en equinos: fenómeno de hipobiosis de los pequeños estróngilos (Cyathostominae) en Tandil, Buenos Aires, Argentina. Rev. Med. Vet. (Bs. As.) 3: 62-72. Symposium. 385-389.

GORDON, H. Mc., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. J. Counc. Sci. Ind. Res.12, 50-52.

HENRIKSEN, SV. AA. ; Korsholm, H. 1983. A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. Nord. Vet. Med., 35:429-430.

HERD, r.p. 1990. The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the decline of strongylus vulgaris. Compend. Contin. Educ. Vet. 12: 732-736.

KAPLAN, R. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. Trends Parasitol. 20:477-481.

KORNAS S, SKALSKA M, NOWOSAD B, GAWOR J, KHARCHENKO V, CABARET J. 2009. Occurrence of strongyles (Strongylidae) in horses from small farms on the basis of necropsy. Pol J Vet Sci. Polish Journal of Veterinary Sciences, vol. 12, pp. 225-230.

LAMBERTI , R.; GINO, L.; CALVO, C.; BERTORELLO MASCARÓ , G.; BENITO ,A. 2008. Epidemiología y parasitismo gastrointestinal en equinos. 32-33.

LICHTENFELS, J.R.; KHARCHENKO V.A.; DVOJNOS G.M. 2008 Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae) Vet Parasitol 156:4-161

LOVE, S., MURPHY, D. y MELLOR, D. 1999. Pathogenicity of cyathostomes infection. Vet. Parasitol. 85, 113–122.

McCRAW, B.M. y SLOCOMBE, J.O.D. (1978) Strongylus edentatus: Development and lesions from ten weeks postinfection to patency. Canadian Journal of Comparative Medicine,42, 340 – 356

NIELSEN, M.K.; PFISTER, K.; Von SAMSON HIMMELSTJERNA. 2014a. Selective therapy in equine parasite control– Application and limitations. Vet. Parasitol. 202: 95-103.

OGBOURNE, C.P 1971. On the morphology, growth and identification of the pre-infective larvae of some horse strongylids. Parasitology,63, 455 – 472

OWEN, J.; SLOCOMBE, D.; de GANNES, R.; LAKE, M.C. 2007. Macrocyclic lactone-resistant Parascaris equorum on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate Vet. Parasitol. 145: 371-376

PRADA SANMIGUEL, G. A. 2008. Determinación de las características morfológicas de larvas L1, L2 y L3 en parásitos gastrointestinales del equino en la región de los Lagos, Chile. *Revista de Medicina Veterinaria* N° 15: 39-48

REYNEMEYER, C.R.; NIELSEN, M.K. 2009. Parasitism and colic. *Vet. Clin. Equine* 25: 233-245.

REYNEMEYER, C.R. y NIELSEN, M.K. 2013. *Handbook of equine parasite control*. West Sussex: Wiley-Blackwell. ISBN: 978-0-470-65871-0.

ROBERTS, F. H.; O' SULLIVAN, P. J. 1949. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, 1:99-103.

RUSSELL, A.F. (1948). The development of helminthiasis in Thoroughbred foals. *Journal of Comparative Pathology*, 58, 107-127.
THIENPONT, D., ROCHETTE, F. y VANPARIJS, O.F.J. (1986). Diagnóstico de las helminthiasis por medio del examen coprológico. (2ª edición). (pp. 69-89). Beerse, Belgium: Janssen Research Foundation.

SCHUMAGER, J.; TAINTOR, J. 2008. A review of the use of moxidectin in horses. *Equine Vet. Educ.* 20: 546-551.

SCOTT, I.; BISHOP, R.M.; POMROY, W.E. 2015. Anthelmintic resistance in equine helminth parasites – a growing issue for horse owners and veterinarians in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 63: 188-198.

TRAVERSA, D.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; DEMELER, J.; MILILLO, P.; SCHURMANN, S.; BARNES, H.; OTRANTO, D.; PERRUCCI, S.; DI REGALBONO, A.F.; BERALDO, P.; BOECKH, A.; COBB R. 2009. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany *Parasite Vectors* 2 (Suppl. 2), p. 2

TRAVERSA, D.; CASTAGNA, G.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; MELONI, S.; BARTOLINI, R.; GEURDEN, T.; PEARCE, M.C.; WORINGER, E.; BESOGNET, B.; MILILLO, P.; D'ESPOIS, M. 2012. Efficacy of major anthelmintics against horse cyathostomins in France. *Vet. Parasitol.* 188: 294–300

URQHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M. 1996. *Veterinary Parasitology*. 2nd ed. Blackwell Science Ltd. Oxford. pp. 4-10, 42-47.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. 2012. Anthelmintic resistance in equine parasites-detection, potential clinical relevance and implications for control. *Vet. Parasitol.* 185: 2-8.

XIAO, L.; HERD, R.P.; MAJEWSKI, G.A. 1994. Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Vet. Parasitol.* 53: 83-90.