

Determinación de las características morfológicas de larvas L1, L2 y L3 en parásitos gastrointestinales del equino en la región de los Lagos, Chile

Germán Alonso Prada Sanmiguel*

RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en la Región de los Lagos, Chile. La finalidad de la investigación fue determinar el tiempo de aparición y las características morfológicas de las larvas L1, L2 y L3 de grandes y pequeños *strongilos* del equino, para lo cual se utilizaron 10 animales pertenecientes al predio Isla Teja de la Universidad Austral de Chile. A estos animales se les tomó una muestra de materia fecal y mediante la técnica de MacMaster se determinó el número de huevos por gramo de materia fecal, seleccionando las cuatro muestras con los conteos más altos, las cuales fueron sembradas con temperatura y humedad controlada, para ser submuestreadas cada 24 horas por un lapso de 21 días, estas submuestras se analizaron mediante la observación directa y la técnica de Baermann anotando todos los cambios tanto macro como microscópicamente. Fue posible diferenciar entre larvas L1, L2 y L3 de grandes y pequeños *estrón-gilos*, las larvas L1 de *pequeños* *estrón-gilos* aparecieron desde el día 2, las L2 desde el día 3 y las L3 desde el día 7.

Palabras clave: pequeños *estrón-gilos*, Baermann, cultivos.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LARVAE L1, L2 AND L3 IN EQUINE GASTROINTESTINAL PARASITES IN THE REGION OF LOS LAGOS IN CHILE

ABSTRACT

The present study was carried out in the region of Los Lagos in Chile. The purpose of this research was to determine the time of apparition and the morphologic characteristics of larvae L1, L2 and L3 of large and small strongyles of horses. 10 animals belonging to "Isla Teja" of the Universidad Austral de Chile campus were used. A sample of faeces was taken from these animals and the number of eggs per gram in faecal material was determined using the McMaster's technique. After selecting the four samples with the highest counts, eggs were planted with temperature and humidity controlled in order to subsample every 24 hours for a period of 21 days. These sub-samples were analyzed by direct observation and Baerman's technique, scoring macro and microscopically changes. It was possible to differentiate between larvae L1, L2 and L3 of large and small strongyles. Larvae L1, L2 and L3 of small strongyles appeared from days 2, 3 and 7 respectively.

Key words: small strongyles, Baermann, Cultures

* Médico Veterinario de la Universidad Nacional de Colombia. MSc. en Ciencias Veterinarias mención salud animal de la Universidad Austral de Chile. Docente de Cirugía de Grandes Animales y Medicina Interna de Bovinos y Equinos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de La Salle. Correo electrónico: gprada@lasalle.edu.co

Fecha de recepción: 22 de enero de 2008.
Fecha de aprobación: 4 de marzo de 2008.

INTRODUCCIÓN

Los equinos son huéspedes de un gran número de parásitos nemátodos pertenecientes a la familia *Strongilidae* y, en especial, de los pequeños estróngilos y grandes estróngilos. Debido a su alta y creciente prevalencia, a sus efectos patógenos y a la sospecha de estar desarrollando resistencia antihelmíntica frente a todos los fármacos antihelmínticos (Venturelli, 2001), se hace necesario implementar técnicas para la detección de poblaciones de estos nemátodos con resistencia, para lo cual es de vital importancia conocer cómo se desarrollan las larvas de dichos parásitos y cómo se comportan frente a los diferentes antihelmínticos.

Este estudio fue realizado con el fin de determinar las características de los diferentes estados larvales de parásitos gastrointestinales en la materia fecal del equino, de la Región de los Lagos, Chile.

Según Lichtenfels, (1975), Jub y col. (1985), Lombardero (1990), Sievers y Valenzuela (1998) y Colahan y col. (1998), el equino puede ser afectado por un elevado número de parásitos gastrointestinales. Entre los más importantes se encuentran los pequeños y grandes estróngilos.

Pequeños estróngilos: también llamados cyathostomins agrupan 13 géneros y más de 51 especies (Corwin y Nahm, 1997; Lichtenfels y col., 1997; Lichtenfels y col., 1998; Lichtenfels y col., 2001; Vitaliy y col., 2001). Los géneros más importantes son *Cylicostephanus*, *Cylicocyclus* y *Cyathostomum*. Tienen distribución mundial, poseen ciclos biológicos sin grandes migraciones orgánicas y son comunes en caballos, burros y mulas (Johnstone, 1998). Lichtenfels y col. (1998) y Vitaliy y col. (2001), mencionan que a nivel mundial hay más de 51 especies, las cuales se localizan en el colon de los equinos. En Estados Unidos se han identificado 29 especies (Reinemeyer, 1987). En general la prevalencia de los pequeños estróngilos es muy alta, virtualmente el 100% de los

animales se puede infectar con estos parásitos (Krecek y Guthrie, 1999; Chapman y col., 2001). Se ha visto que más del 80% de los huevos eliminados por la materia fecal de los equinos corresponden a este grupo de parásitos. En Chile se han diagnosticado 25 especies de pequeños estróngilos (Sievers, 2002).

Ciclo biológico: es directo y similar para todas las especies del grupo (Lichtenfels, 1975; Lichtenfels y col., 1998). Los huevos caen al medio ambiente junto con la materia fecal que otorga un habitat favorable para el desarrollo de los huevos de los pequeños estróngilos, mientras que las larvas infectantes (L3) viven en la tierra o sobre la superficie de las plantas. A una temperatura ambiental de 25° C en 4 a 7 días se desarrolla el 68% de las L3 (Klei y French, 1998; Johnstone, 1998). Su desarrollo al parecer es óptimo en los meses de verano, y nulo durante los meses de invierno (Sievers y col., 1994; Johnstone, 1998; Chapman y col., 2001). Las L3 se caracterizan por tener una cola muy larga y por ser muy resistentes a las condiciones ambientales, pudiendo, al parecer, sobrevivir por más de un año. Al ser ingeridas pierden su vaina de protección en el intestino delgado penetrando en la submucosa cecal y del colon mayor, donde forman nódulos pequeños de color amarillento o grandes nódulos de color rojizo. Allí mudan a L4 y L5 regresando luego al lumen del ciego y colon ventral derecho, con un período prepatente de 4 a 6 semanas hasta 3 a 4 meses (Gutteridge, 1993; Larsen y col., 1996; Corwin y Nahm, 1997; Klei y French, 1998; Monahan, 2002). Estos parásitos también tienen la capacidad de desarrollar el estado de hipobiosis (Cordero del Campillo y Rojo, 1999; Tinsley, 1999; Wharton, 1999) que consiste en el enquistamiento de larvas L3 dentro de la mucosa intestinal, sobre todo en los meses de invierno o en áreas con cambios climáticos extremos o muy marcados (Lyons y col., 1999; Monahan, 2002). La hipobiosis, al parecer, se ve estimulada en las L3 presentes en el pasto, por temperaturas bajas a nivel de las pasturas. Dichas L3, al ser consumidas por el equino, entran en

hipobiosis en la mucosa del intestino grueso hasta que mejoren las condiciones ambientales (primavera) (Klei y French, 1998; Tinsley, 1999; Wharton, 1999; Monahan, 2002). Se sabe que la salida de larvas a partir de nódulos hipobióticos puede ocurrir a lo largo de años, lo cual ha servido para teorizar que la hipobiosis es un mecanismo de control que utilizan los parásitos para regular el número de individuos adultos a nivel de la luz intestinal (Tinsley, 1999; Wharton, 1999). Esto debe tenerse en cuenta al realizar programas de control antiparasitario, pues de este modo se puede estimular la salida de las larvas hipobióticas (Gibson, 1960). Usualmente el número de estos parásitos es mucho más alto en animales jóvenes que en adultos, indicando una respuesta inmunitaria a la exposición previa de los mismos (Craig, 1999; Lyons y col., 1999).

Patogénesis: los adultos se alimentan de la mucosa intestinal cambiando frecuentemente de lugar. Las parasitosis masivas destruyen una gran superficie de mucosa del colon ventral, disminuyendo su capacidad de absorción de nutrientes y aumentando la absorción de sustancias tóxicas desde la luz del intestino debido a la lesión de la mucosa (Uhlinger, 1990; Love y col., 1999), pueden causar diarrea persistente, emaciación e hipoalbuminemia y colitis granulomatosa. Hay bajo rendimiento en equinos adultos y retraso en el crecimiento de los potrillos (Lichtenfels y col., 1998; Craig, 1999; Klei y Chapman, 1999; Love y col., 1999; Lichtenfels y col., 2001; Monahan, 2002).

Diagnóstico: se realiza por recuento de huevos o sedimentación flotación. Para diagnosticar grandes y pequeños estróngilos es necesario realizar el cultivo y diferenciación de larvas (Bürger y Stoye, 1968; Larsen y col., 1996; Corwin y Nahm, 1997).

Tratamiento: basado en el uso de lactonas macrocíclicas (Klei y French, 1998; Lyons y col., 1999; Sangster, 1999).

Strongylus vulgaris es un nemátodo de 2,5 a 4 cm de largo por 1mm de grosor. Su desarrollo en el

medio ambiente es similar al de los pequeños estróngilos (Sievers y col., 1994). Estas L3 infectivas poseen una cutícula que las protege de la desecación, aumentando así su tiempo de vida en el medio ambiente, pero a cambio les impide el poder alimentarse, con lo cual la larva está limitada en su actividad de translación e infectividad según sus reservas de lípidos (Lichtenfels, 1975; Medica y Sukhdeo., 1997). Cuando el equino consume las larvas L3 junto con el pasto, llegan al intestino delgado donde se presenta la ecdisis; luego traspasan la mucosa e inician una migración ascendente por la íntima de las arterias mesentéricas, finalizando esta en la raíz de la arteria aorta, donde mudan a L4 y luego a L5 causando los aneurismas verminosos. Después de algunas semanas las L5 penetran a la luz arterial y descienden por el torrente sanguíneo hasta el intestino, traspasan la mucosa del colon mayor donde mudan a parásitos adultos. Su período prepatente es de aproximadamente 6 a 9 meses (Johnstone, 1998).

Patogénesis: los parásitos adultos causan hemorragias y ulceraciones en ciego y colon mayor. Las L5 pueden llevar a la producción de aneurismas, trombos, émbolos, infartos intestinales, cólicos tromboembólicos y muerte. La mayor incidencia de cólicos por estos parásitos se presenta durante y al final del invierno. Otros signos incluyen pérdida de sangre con la presentación de anemia, irritación de la pared intestinal.

Tratamiento: larvas L4 y L5 se puede intentar eliminarlas con lactonas macrocíclicas, al igual que los adultos, que comúnmente son tratados con Ivermectinas.

Los otros grandes estróngilos son *S. equinus* y *S. edentatus*. Sus lesiones se limitan a hallazgos incidentales en las necropsias (Bürger y Stoye, 1968; Jub y col., 1985; Lombardero, 1990; Colahan y col., 1998).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la Xª Región de Chile, también conocida como Región de los Lagos, la cual presenta los promedios de temperatura

más bajos entre junio y agosto (8,5° C.), y los más altos entre diciembre y febrero (17° C.), con una pluviosidad promedio de 116,13 mm/año. El estudio consistió en la estandarización del procedimiento para el cultivo de larvas de nemátodos intestinales del equino con el fin de conocer las características morfológicas y los tiempos de aparición en los cultivos de los estados larvales L1, L2 y L3.

Para este fin se escogieron al azar diez equinos adultos, criollos, con un sistema de manejo similar, pertenecientes al predio Teja Norte de la Universidad Austral de Chile, en la ciudad de Valdivia. A estos diez animales se les extrajo una muestra de materia fecal directamente del recto, con manga de palpación plástica y lubricada únicamente con agua, con el fin de evitar cualquier sustancia extraña que pudiese alterar el normal desarrollo de las larvas. Posteriormente la muestra fue trasvasada a una bolsa plástica, sellada y marcada con el número o nombre del animal y guardada en una nevera portátil para mantenerla en refrigeración y así evitar la eclosión de los huevos de posibles parásitos presentes en la muestra. En el laboratorio de Parasitología del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, se homogenizó cada muestra dentro de las bolsas masajeándola suavemente; con ello se repartió uniformemente los huevos de nemátodos en la materia fecal colectada. Mediante la técnica de Mac Master modificada por Schmidt (1971), se realizó un conteo de huevos por gramo de heces (hpg) para seleccionar las muestras con los conteos más altos. Con ellas se realizaron los cultivos para detallar todo lo concerniente al desarrollo de las larvas.

DESCRIPCIÓN DE LA SIEMBRA, CULTIVO Y COSECHA DE LAS LARVAS

- a. En un vaso plástico desechable se colocó de 100 a 150 gr de materia fecal en porciones pequeñas con el fin de garantizar la aireación apropiada de la muestra. Los vasos se llenaron hasta $\frac{3}{4}$ partes.
- b. Luego se taparon los vasos con trozos de papel

con múltiples perforaciones sujetos con una banda elástica. Para perforar el papel se utilizó un clavo. La finalidad de tapar las muestras fue impedir que moscas u otros artrópodos coloquen huevos en la materia fecal cuyas larvas pueden interferir en el desarrollo de las larvas de los nemátodos.

- c. Las muestras se almacenaron en el laboratorio en repisas de madera cerca de la calefacción central protegidas de la luz solar. La temperatura se controló dos veces al día durante 15 días por medio de un termómetro ambiental, unos días se observó a las 8:30 a. m. y a las 8:30 p. m., otros días a las 11:00 a. m. y a las 11:00 p. m.
- d. A todas las muestras se les realizó una réplica, con las mismas características de la muestra original, almacenándose en el mismo sitio y dándole el mismo manejo.
- e. Diariamente cada muestra fue agitada suavemente para mejorar la aireación y mantener una humedad uniforme.
- f. Con el fin de observar el desarrollo de las larvas (durante 21 días), se extrajo diariamente de 5 a 10 g de materia fecal, tanto de la muestra principal como de la réplica. Las muestras se procesaron de dos formas para extraer las larvas:
 - Mediante la técnica de migración activa o técnica de Baermann-Wetzel descrita en Rommel y col. (2000). Las muestras, envueltas en una porción de gasa, se colocaban en un tamiz plástico que se suspendió del borde de un embudo lleno de agua sellado en su salida con una manguera de goma pinzada. Después de 24 horas se obtuvo la primera porción sedimentada de líquido del embudo (aprox. 10 a 15 ml) abriendo la pinza. El líquido, que contiene las larvas, se recogía en un tubo de ensayo.
 - Mediante la técnica de Roberts y O'Sullivan (1950). La cual consiste en colocar la materia fecal en un vaso de plástico lleno de agua hasta el borde; luego se tapa con una placa de Petri y se invierte, quedando el vaso boca abajo sobre la placa. De esa forma se deja reposar 24 horas y luego se extrae el líquido que

se encuentra en la placa con una pipeta y se lleva a un tubo de ensayo para concentrar las larvas que allí se encuentran.

- g. Las muestras así colectadas en el tubo de ensayo se centrifugaron a 1500 rpm por dos minutos y luego se aspiró el sobrenadante. Con un gotario se extraía una gota del sedimento (agitado previamente para homogenizar su contenido) que se colocó sobre un portaobjetos para proceder a realizar la observación diaria en un microscopio a 100 y 250 aumentos. Para aclarar muestras muy turbias, se volvían a diluir en agua dentro del tubo de ensayo y se repetía la centrifugación.
- h. A todas las muestras se les hizo examen tanto del fondo del tubo de ensayo como de la parte superior.
- i. Se estableció el tiempo de desarrollo y morfología de las larvas I, II y III.
- j. Finalmente se anotaron todas las características macroscópicas de las muestras, tales como humedad aparente, color, crecimiento de hongos, olor, etc.

RESULTADOS

COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE COSECHA DE LARVAS EN DIFERENTE ESTADO DE DESARROLLO

A pesar que la cantidad de larvas recolectadas por los métodos Roberts y O'Sullivan y Baermann-Wetzel fueron similares, se optó por la técnica de Baermann-Wetzel por las siguientes razones:

- Manipulación más sencilla de las muestras.
- Muestras más claras y con menor cantidad de artefactos.
- Menor cantidad de pérdida de muestras por accidentes.
- Menor cantidad de espacio y equipo para ejecutarla.

SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS PARA EL ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LAS LARVAS

Las características de los animales muestreados en el Fundo Teja Norte, así como los conteos de huevos por gramo

de materia fecal (hpg) ordenados de mayor a menor, son mostrados en la Tabla 1. Para el posterior análisis se seleccionaron las cuatro muestras con los conteos más altos.

TABLA 1 NOMBRE, PESO, EDAD Y CONTEOS (HPG) DE LOS EQUINOS MUESTREADOS EN EL FUNDO TEJA NORTE.

Nombre	Peso / Kilos	Edad /Años	hpg
Escarlata	380	11	2900
Chucao	320	10	1750
Cascarita	310	3	1200
La flaca	240	8	1100

Las cuatro muestras de los animales seleccionados se sembraron para permitir el desarrollo de las larvas de los nemátodos parásitos. La temperatura en los cultivos se mantuvo entre los 18 hasta los 22° C.

DESCRIPCIÓN DE LA EVOLUCIÓN DEL MATERIAL FECAL Y DEL DESARROLLO LARVARIO.

Día 0: las muestras tenían humedad, color, olor y consistencia normales para la especie y tipo de alimentación. Al microscopio se observó células de descamación intestinal y fibras vegetales en el fondo y en la parte superior de la muestra. No se observó ninguna forma parasitaria.

Día 1: pérdida de humedad en todas las muestras, las demás características se mantuvieron iguales al día anterior.

Día 2: en dos muestras se observó el crecimiento de un hongo filiforme, de color blanquecino que corresponde al género *Pilobolus*. Al microscopio se observó huevos larvados y larvas libres con características de larvas L1 de parásitos nemátodos (Fotografía 1): esfago de tipo rabditiforme, con una válvula esofágico-intestinal, orificio bucal abierto y en posición apical, pseudocele muy granulado y ausencia de células intestinales y un poro anal en la parte distal de la larva. El extremo posterior de la larva se adelgaza abruptamente y la cola tiene forma filiforme midiendo 2/3 del largo del cuerpo. También se observó hifas de hongos en todas las muestras.

Día 3: se observó un mayor crecimiento de *Pilobolus* en algunas muestras y pérdida del olor característico. Al examen microscópico se observó larvas 1 que se alimentaban en una muestra. En las otras muestras hubo, además, larvas con características de L2 (Fotografía 2): esófago rabadiforme, orificio bucal y poro anal abierto al medio ambiente con un conducto continuo desde la válvula esofágico-intestinal hasta el poro anal. También se observó larvas de diferentes tamaños, algunas mucho más robustas que otras, pero con las mismas características ya descritas. En algunas muestras se observó, además, gran cantidad de protozoos moviéndose activamente alrededor de las larvas.

FIGURA 1. LARVA I (L1) DE PEQUEÑO ESTRÓNGILO (CYATHOSTOMINAE) DEL EQUINO.



Día 4: se observó crecimiento y maduración de los hongos *Pilobolus* al encontrar puntos negros (esporas) en la tapa de papel de los recipientes. También se pudo escuchar las esporas estrellándose contra el papel. En algunas muestras no hubo crecimiento de hongos. Todas las muestras presentaron compactación debido a la pérdida de humedad. Se pudo observar larvas 1 y 2, muy activas, de diferentes diámetros y en muchas se visualizó como se desprendía la cutícula al mudar de un estado larvario a otro.

Día 5: las muestras estaban más secas y compactas. Se observó gran cantidad de L2, con un esófago definido, conducto intestinal continuo y orificio bucal y poro anal abiertos al medio ambiente. El 100% de las larvas estaban activas y no se observó larvas muertas. En una muestra se observó algunas larvas mucho más grandes, menos activas y rígidas, con un esófago menos definido y un pseudocele con

granulaciones más finas, cola más corta y que no se adelgazaba abruptamente, orificio bucal abierto al medio ambiente.

Día 6: los hongos comenzaron a desaparecer y las muestras estaban algo reseca. Al examen microscópico se pudo ver larvas muy activas y larvas L2 en proceso de muda a L3. La doble cutícula en algunas larvas y su plegamiento indicaba su muda a L3. Presentaban esófago filiforme y la abertura oral había perdido su comunicación con el medio externo, además las larvas se encontraban encerradas dentro de la cutícula de la L2; las células intestinales no se veían claramente y el pseudocele presentaba pequeñas vacuolas o vacíos en lo que anteriormente era un tubo intestinal continuo (Figura 3).

FIGURA 2. LARVA II (L2) DE PEQUEÑO ESTRÓNGILO (CYATHOSTOMINAE) DEL EQUINO.



Día 7: al examen microscópico se apreciaron muestras con L2 en transición hacia L3, ya que presentan algunas características de L3 pero con células intestinales poco claras y difíciles de contar. En una muestra se observó larvas con esófago filiforme, válvula esofágico-intestinal difusa, cutícula externa completa que impide su contacto con el medio externo y 9 células intestinales muy claras, visibles a 250 aumentos (Figura 4). Estas larvas eran mucho más activas que las L1 y L2, presentando un movimiento oscilatorio en forma de látigo, muy fuerte y que se veía estimulado por la luz.

FIGURA 3. LARVA L2 MUDANDO A L3 PSEUDOCELE CON PEQUEÑAS VACUOLAS



FIGURA 4. LARVA III (L3) DE PEQUEÑO ESTRÓNGILO (CYATHOSTOMINAE) DEL EQUINO.



Día 8: las muestras habían recuperado algo de humedad. En una muestra había, casi en su totalidad larvas con características de L3, muy activas y con movimientos oscilatorios frenéticos. En otra se observó algunas larvas mucho más grandes que las anteriormente descritas y que estaban mudando a L3, con cola en forma de hilo, con una relación cuerpo cola de 2,5 a 1, y más de 10 células intestinales difíciles de contar.

Día 9: una muestra presentaba mucha compactación. En todas las muestras se apreció gran cantidad de L3 muy móviles, con nueve células intestinales y esófago filiforme. Sin embargo, se pudo observar algunas L2 y otras en paso hacia L3. Las larvas grandes observadas en una muestra habían mudado a L3, presentando doble cutícula, esófago filiforme, con orificio bucal y poro anal abriéndose dentro de la luz de la cutícula y un total de 32 células intestinales, muy claras pero de menor tamaño que en las larvas más pequeñas (Figura 5) .

Días 10 y 11: en todas las muestras se observan L3, pero aún pueden encontrarse algunas larvas L2 y

una que otra L1. También aparecen gran cantidad de protozoos grandes y activos.

Día 13: muestras muy secas y compactas. La totalidad de larvas tenían características de L3, todas vivas y muy activas. Gran cantidad de protozoos.

Días 15, 17 y 22: las muestras se encontraban muy secas superficialmente, pero en el interior de la masa de materia fecal aún había material húmedo y de consistencia blanda. Todas las larvas correspondían a L3, muy activas, en su gran mayoría con 9 células intestinales y unas pocas con 32 células intestinales. Se finalizó las observaciones macro y microscópicas, por considerar que ya no se encontrarían grandes diferencias con lo observado en los días anteriores.

FIGURA 5. LARVA III (L3) DE *STRONGYLUS VULGARIS* DEL EQUINO



DISCUSIÓN

Lichtenfels y col., (1999) mencionan que un 50% o más de los huevos eliminados por los equinos en la materia fecal corresponden a pequeños estróngilos, y Krecek y Guthrie, (1999) describen que hasta un 100% de los equinos pueden ser infectados por este tipo de parásitos. Estas afirmaciones concuerdan con lo encontrado en el presente estudio, ya que en la totalidad de las muestras sembradas se diagnosticó sobre un 95% de L3 de *pequeños estróngilos*, siendo la población parasitaria más abundante en todos los animales. Las L3 de este grupo de parásitos encontradas en los cultivos presentaron características morfológicas similares a las descritas por Johnstone (1998) y Bürger y Stoye (1968).

Fue posible diferenciar entre larvas L1, L2 y L3 de *pequeños y grandes estróngilos* mediante la observación al microscopio de características tales como: tipo de esófago, morfología del pseudocel, número y características de las células intestinales, que es común para todos los nemátodos parásitos, existiendo algunas diferencias con los nemátodos de vida libre y que concuerdan con lo descrito por Cordero del Campillo y Rojo (1999) y Lichtenfels (1975). Los hallazgos morfológicos de las L1 y L2 de los *pequeños estróngilos* (figuras 1, 2 y 3) no pudieron ser corroborados con la literatura por falta de citas.

Fue posible diferenciar entre las larvas L3 de pequeños y grandes estróngilos, a) por el largo de la cola, que mientras en los primeros ocupa $\frac{2}{3}$ del largo del cuerpo, en los segundos abarca $\frac{1}{4}$ del mismo, b) el número de células intestinales que en los pequeños estróngilos es de 8 a 9, y en *Strongylus vulgaris* es de 28 a 32. Estas diferencias concuerdan con las mencionadas por Bürger y Stoye (1968), Lichtenfels, (1975) y Corwin y Nahm, (1997). Las larvas L3 de *Strongylus edentatus* se diferencian en que su cuerpo es más delgado, con un esófago más largo, 20 células intestinales poco nítidas y una cola algo más corta que la de los pequeños estróngilos (Bürger y Stoye, 1968).

En los cultivos se obtuvieron larvas L1 de pequeños estróngilos a partir de los dos días de sembradas las muestras, L2 a los tres días y L3 a partir de los siete días postsiembra, pero la gran masa de larvas L3 se obtuvo a partir de los diez días postsiembra, con una temperatura que oscilo entre los 18 a los 22° C. Esto concuerda con lo encontrado por Johnstone (1998) que menciona que a una temperatura de 20° C se desarrolla el 55% de las L3 de pequeños estróngilos en 7 a 8 días. Klei y French (1998) y Larsen y col. (1996) dicen que a una temperatura de 25° C se desarrolla casi la totalidad de las L3 de en un lapso de 14 días. En cuanto a la temperatura Corwin y Nahm (1997),

declaran que para el desarrollo de larvas de parásitos nemátodos se necesitan entre 10 a 30° C. Sievers y col. (1994), mencionan que las larvas L1 de pequeños estróngilos se desarrollan y eclosionan entre 26 a 48 horas, lo cual se corroboró en el presente estudio.

Larvas de grandes estróngilos aparecieron a partir del día nueve postsiembra difiriendo con lo descrito por Lichtenfels (1975) y Johnstone (1998) quienes mencionan que, a temperaturas superiores a los 10° C, las larvas L3 aparecen a los 7 a 8 días postsiembra. Esta diferencia puede deberse al bajo número de larvas de grandes estróngilos presentes en las muestras que, al momento de ser cosechadas, es posible que no estuviesen presentes en la porción de materia fecal utilizada para el análisis.

Rommel y col. (2000) mencionan que las esporas de *Pilobolus* deben pasar a través del tracto gastrointestinal de algún herbívoro para poder desarrollar sus esporangios sobre la materia fecal y que éstos se desarrollan entre los días 4 al 8 de encontrarse en el medio ambiente. En el presente estudio se desarrollaron los esporangios de *Pilobolus* a partir del 2 día de haber hecho los cultivos, lo que difiere de lo descrito. Ello puede deberse a la temperatura más regular y alta que se midió en el laboratorio (entre 18 y 22° C).

CONCLUSIONES

El cultivo de larvas de nemátodos del equino a partir de muestras de materia fecal es una técnica sencilla y que aporta datos valiosos sobre el género y las características morfológicas de los distintos estados larvales de poblaciones de pequeños y grandes estróngilos del equino.

Fue posible determinar el tiempo de aparición y las características morfológicas de larvas L1, L2 y L3 de grandes y pequeños estróngilos del equino.

BIBLIOGRAFÍA

- Bürger, H.-J., M. Stoye. Parasitologische Diagnostik (Teil II). Therapogen Praxidienst. 1968.
- Chapman, M.R., D.D. French, T.R. Klei. "Seasonal transmission of gastrointestinal parasites of equids in southern Louisiana". *Vet. Parasitol* 87. 6 (2001): 1371 - 1378.
- Colahan, P., G. Mayhew, M. Merrit, N. Moore. *Medicina y Cirugía Equina*. (4 ed.). Buenos Aires: Editorial Intermédica, 1998.
- Cordero Del Campillo, M., F.A. Rojo, *Parasitología Veterinaria*. (1 ed.). México: McGraw Hill. Interamericana, 1999.
- Corwin, R.M., J. Nahm. Small Strongyles. University of Missouri College of Veterinary Medicine, 1997. [http://us.merial.com/pdf/page/pdf/Anthelmintic Resistance in the Equine. pdf](http://us.merial.com/pdf/page/pdf/Anthelmintic%20Resistance%20in%20the%20Equine.pdf)
- Craig, M.T. Considerations for the control of equine cyathostomes in arid areas. *Vet. Parasitol* 85.(1999): 181-188.
- Gibson, T.E. Some experiences with small daily doses of phenothiazine as a means of control of strongylid worms in the horse. *Vet. Rec.* 72. (1960): 37 - 41.
- Love, S. D. Murphy, D. Mellor. "Pathogenicity of cyathostome infection". *Vet. Parasitol* 85. (1999): 113 - 122.
- Gutteridge, W.E. Chemotherapy. *Modern Parasitology* (ed. F.E.G. Cox). 2nd edn. *Black-well scientific Publications, Oxford*: 219-242.
- Paulrut, C.O., R.E. Pedersen, M. Eydel. CField efficacy of ivermectin (Ivomec) injection on faecal strongyle egg output of Icelandic horses". *Icel. Agr. Sci.* 11. (1997): 131-139.
- Johnstone, C. Parasites and parasitic diseases of domestic animals. *University of Pennsylvania*. 1998. <http://cal.nbc.upenn.edu/Merial/>.
- Jub, K.V.F., P.C. Kennedy, N. Palmer. *Pathology of Domestic Animals* 1. (4 ed.). San Diego: Academic Press, 1985.
- Klei, R.T., D.D. French. Small Strongyles: an emerging parasite problem for horses. *Eq. Pract.* 20. (1998): 26 - 30.
- Krecek, R.C., A.J. Guthrie. "Alternative approaches to control of cyathostomes: an African perspective". *Vet. Parasitol.* 85. (1999): 151 - 162.
- Larsen, M., *et al.* "The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture". *The journal parasitology of Cambridge.* 113. (1996): 1 - 6.
- Lichtenfels, J.R., A. McDonnel, S. Love, J.B. Matthews. "Nematodes of the Tribe Cyathostominae (Strongylidae) collected from horses in Scotland". *Comp. Parasitol.* 68. (2001): 265 - 269.
- Lichtenfels, J.R., V.A. Kharchenko, C. Sommer, M. ITO. Key characters for the Microscopical Identification of *Cylicocyclus nassatus* and *Cylicocyclus ashworthi* (Nematoda: Cyathostominae) of the horse". *Equus caballus. J. Helminthol. Soc. Wash.* 64. (1997): 120-127.
- Lichtenfels, J.R., V.A. Kharchenko, R.C. Krecek, L.M. Gibbons. "An annotated checklist, by genus and species, of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world". *Vet Parasitol.* 79. (1998): 65 - 79.
- Lichtenfels, J.R. "Helminths of Domestic Equids". *J. Helminth. Soc. Wash.* 42. (1975).
- Love, S., D. Murphy, D. Mellor. "Pathogenicity of cyathostome infection". *Vet. Parasitol.* 85. (1999): 113 - 122.
- Lombardero, O. *60 Ciclos Biológicos de Interés Veterinario. Editorial Hemisferio Sur*, 1990.

- Lyons, E., S. Tolliver, J.H. Drudge. Historical perspective of cyatho-stomes: prevalence, treatment and control programs. *Vet. Parasitol.* 85. (1999): 97 - 112.
- Medica, D.L., M.V.K. Sukhdeo. "Role of lipids in the transmission of the infective stage (L3) of *Strongylus vulgaris* (Nematoda: *Strongylida*)". *J. Parasitol.* 83. (1997): 775 - 779.
- Monahan, C. Anthelmintic control strategies for horses. International Veterinary Information Service. 2002. (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.
- Reinemeyer, C.R., Anthelmintic resistance in horse. *Equine Vet. Sci.* 7. (1987): 390 - 391.
- Roberts, F, P.J.O. Sullivan. Methods for eggs counts and larval cultives for strongylus infesting the gastrointestinal tract of cattle. *J. Agr. Res.* 1. (1950): 99 - 102.
- Rommel, M., J. Eckert, E. Kutzer, W. Körting, T. Schnieder. Veterinärmedizinische Parasitologie. *Parey Buchverlag* Berlin 2000. vol. 5: 268.
- Sangster, N.C. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectine/milbemycins?. *Vet. Parasitol.* 85. (1999): 189 - 204.
- Sievers, G., I. Quintana, S. Anticevic, M. Patiño, C. Gallardo. Desarrollo, traslación y sobrevivencia de larvas de estrogilidos del equino en el ambiente natural en Valdivia, Chile, *Arch. Med. Vet.* 27. (1994): 35 - 44.
- Sievers, P., G. Valenzuela. "Parasitología General. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Patología Animal, Valdivia, Chile.
- Tinsley, R.C. 1999. Overview: extreme environments". *The Journal Parasitology of Cambridge.* 119. (1998): 1 - 6.
- Uhlinger, C.A. Effects of three anthelmintic schedules on the incidence of colic in horse. *Equine Vet. J.* 22. (1990): 251 - 254.
- Venturelli, C. « Tipo y frecuencia de uso de antiparasitarios internos en caballos en cuatro centros de equitación de las provincias de Valdivia y Osorno". Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile. 2001.
- Vitaliy, A., Kharchenko, J.R. Lichtenfels, R.C. Kreckek. *Cyathostomun montgomeryi* and its place in the Cyathostominae (Nematoda: Strongylidae). *Comp. Parasitol.* 68. (2001): 97 - 102.
- Wharton, D.A. "Parasites and low temperatures". *The Journal Parasitology of Cambridge.* 119. (1999): 7 - 17.