23463

USO DE PRUEBAS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNOSTICO DE HELMINTIASIS EN RUMIANTES, PRINCIPIOS, CRITERIOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS, INTERPRETACION DE RESULTADOS

Liduvina del C. Roqueme Marrugo*

1. INTRODUCCION

Las pruebas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de los helmintos son herramientas importantes en la toma de decisiones para contribuir a mejorar las condiciones sanitarias de los sistemas de producción con animales y en particular con rumiantes, ya que a través de ellas se puede determinar con cierto grado de confiabilidad el estado parasitario del hato, si se considera que las muestras son adecuadas y los recuentos se interpreten con precaución.

Los estudios epidemiológicos, tan importantes en la investigación de helmintos tienen un gran apoyo en las técnicas utilizadas para la determinación cuantitativa de la concentración de huevos de parásitos en las heces, en donde un seguimiento en el tiempo a uno o varios grupos de animales puede aportar una valiosa información.

2. METODOS DE EXAMEN COPROLOGICO

2.1 Procedimientos de Flotación.

Las técnicas empleadas bajo este principio permiten la estimación del número de huevos de parasitos en una muestra dada. Es uno de los métodos más satisfactorios y se basa en la separación de los huevos del resto de material fecal mediante su flotación en diferentes soluciones.

Las técnicas utilizadas entre otras son: método de MacMaster modificado, método de MacMaster modificado perfeccionado, Sloss, etc.

Las soluciones empleadas para éstos métodos varian en concentración y en compuesto base; así tenemos: sal común, azúcar, sulfato de magnesio, sulfato de Zinc en concentraciones saturada, sobresaturada, al 40%, etc.

El exámen se hace más rápido, fácil y seguro mediante la eliminación de coloración y partículas a través de centrifugación, botando sobrenadante y recopilando sedimento en el medio de flotación escogido.

* M.V.Z., Esp. Helmintología. Investigador Asistente Programa Salud Animal, CORPOICA,-Centro de Investigación en Salud y Producción animal para el trópico -CISPAT. Apartado Aéreo. 602. Montería, Córdoba. Colombia.

La MINIBAERMANN es menos sensible con una relación uno a dos, ofrece las ventajas de poder trabajar más muestras en poco espacio, utilizar menos cantidad de heces y el material utilizado es menos costoso por lo sencillo.

3. CRITERIOS PARA LA TOMA DE MUESTRAS

- Para el diagnóstico de parásitos gastrointestinales y pulmonares mediante la identificación de huevos y larvas de los diferentes géneros presentes, se hace necesario la recolección de muestras frescas, en lo posible obtenidas directamente del recto. Lo más práctico es recoger la muestra en bolsas plásticas suaves que al mismo tiempo sirvan de guantes, suficientemente amplias que permitan la manipulación del operario y evite el traumatismo de la mucosa rectal del animal, una precaución sería utilizar bolsas oscuras para evitar que la luz acelere el proceso de desarrollo. La bolsa debe rotularse indicando por lo menos: fecha, finca e identificación del animal muestreado y el rótulo debe colocarse en el tercio interior de la bolsa antes de usarla. Una vez enfundada la mano, la bolsa se debe humedecer y se procede a unir los dedos para formar el vértice de un cono dirigido a la abertura terminal del tracto digestivo, en donde con movimientos suaves de oscilación se trata de introducir los dedos índice y el medio, con los cuales se procede a efectuar masajes a la mucosa del recto, respondiendo el animal casi de inmediato con la salida del material esperado.

- La muestra puede variar entre 10 y 20 gramos aproximadamente para asegurar cantidad suficiente para el exámen.

- La muestra así obtenida debe ser transportada en refrigeración para evitar que el calor acelere el proceso de desarrollo de los huevos y entregada al laboratorio a la mayor brevedad posible. Cuando es difícil la refrigeración de la muestra y se transporta de muy lejos pudiendo demorar muchas horas, se puede utilizar solución de formaldehído al 10% (1-2 ml. a la muestra) pero ya en estas condiciones no se puede emplear para cultivo ni exámen de parásitos pulmonares. Toda muestra debe ir acompañada de un protocolo.

- El problema del parasitismo no se debe limitar al individuo, se hace necesario considerar en conjunto el hato, con animales en pastoreo. Para estimar el promedio de huevos por gramos (HPG) para un hato, se extraen muestras al azar pudiendo ser similares en composición al hato e incluir por lo menos un animal del grupo que tiene más altos niveles de huevos por gramos que lo constituye a menudo 15 ó 20% de los terneros. Esto asegura que sobre el promedio 95% de las muestras extraídas contienen uno o más animales con altos recuentos de HPG, la muestra puede incluir 15 a 20 animales.

  Para estudio de investigación sobre parásitos gastrointestinales en animales en pastoreo, los recuentos se deben reunir por grupos etarios, realizando evaluaciones mensuales en helmintos de la familia *Trichostrongylidae* como un solo grupo, parásitos pulmunares, fasciola y coccidias.

Los huevos de *Trichostrongylidos*, *Strongyloides, Dictyocaulus* y pequeños vermes pulmonares flotan en solución de sal medio saturada. En solución de sal saturada flotan además de los enunciados, huevos de *Trichuris* y *Capillaria Moniezia* y *Toxocara.*

En solución saturada de $ZnSO_4$ flotan huevos de distomas; en solución semisaturada de Mg_2SO_4 flotan huevos de *Trichostrongylidos*, *Trichuris Capillaria, Strongyloides, Toxocara, Moniezia* y en solución saturada de Mg_2SO_4 flotan larvas de *Trichostrongylidos* (extracción de pastos). El inconveniente de la solución saturada de $MgSO_4$ es que es un poco tóxica para larvas y las muestras no se deben dejar largo tiempo una vez montadas sin examinar. El $ZnSO_4$ saturado también ofrece inconvenientes dado que puede provocar retracción de la cubierta de los huevos y esto provoca el hundimiento de algunos de ellos en la solución de flotación.

2.2. Pruebas Combinadas

Sedimentacion con Agua y Flotación con Solución de Sulfato de Zinc.

Es seguro para la determinación de algunos huevos de helmintos y protozoarios. No se puede dejar largo tiempo porque deforman los huevos, es prueba insegura para obtención de larvas de nématodos. Se recomienda utilizar mejor las pruebas específicas para sedimentación y flotación.

2.3. Procedimiento de Sedimentación

Las pruebas que emplean este principio permiten estimar el número de huevos en una muestra dada y específica para tremátados. Se basa en la recuperación de los huevos del resto de material fecal mediante el lavado de la muestra y sedimentación de la parte interesada.

Las técnicas utilizadas rutinariamente y con más sensibilidad son **DENNIS** y **BORAY-PEARSON.**

La primera es la que tradicionalmente se ha utilizado en nuestro medio pero tiene como inconvenientes el tiempo empleado, el medio de contraste o coloración; los elementos utilizados determinan mayor costo.

La segunda (BORAY- PEARSON) es económica, solo se utiliza agua corriente, el tiempo empleado por muestra es menor(15 minutos), el medio de contraste o coloración es más suave pues el azul de metileno utilizado dá una coloración azul-verdosa que contrasta con la coloración amarilla o parda de los huevos de tremátodos y los huevos no se deforman. Además, en estudios realizados en Córdoba demostraron que esta prueba es más sensible que la Dennis.

2.4. Procedimientos de Migracion

Se emplea para capturar larvas activas (vivas) de las heces, tejidos, pasto y cultivos a través del agua en donde se sumerge el material a examinar y las larvas se liberan por sí mismas debido a su propia actividad de migración. Las técnicas más comunes son BAERMAN Y MINIBAERMAM.

La primera es considerada la más sensible y por ende la más recomendada, su procedimiento es sencillo y para ello el material utilizado es de fácil consecución.

4. INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1 Principales Factores

Para obtener un acercamiento a la realidad se pueden tener en cuenta una serie de factores que son de gran ayuda, entre los que se destacan:

4.1.1. Factores que afectan la relación entre número real de parasitos y recuento de huevos en las heces.

a) **Fluctuaciones estacionales en la producción de huevos.** Varios autores han descrito la capacidad de los parásitos para ajustar su fertilidad a las condiciones ambientales del sitio de pastoreo del huésped; observándose un aumento en la fertilidad de las hembras en época de lluvias y lo contrario en la época seca.

b) **Número de parásitos con capacidad de ovipositar.** Aquí hay que considerar la cantidad de especímenes machos y estados inmaduros en el huésped, pues el recuento de huevos en materia fecal solo puede indicar parcialmente el grado de infestación parasitaria. Un nivel real de infestación de un grupo de animales, sòlo puede ser estimado mediante el sacrificio de los animales y recuento de los paràsitos adultos presentes en el tracto digestivo y pulmonar, al igual que de los estados inmaduros.

c) **Volúmen y contenido de líquido en las heces.** La cantidad de huevos de paràsitos pueden estar sometidos a un factor de diluciòn, en presencia de un alto contenido de liquido en las heces, enmascarando asi niveles importantes de infestaciòn.

4.1.2. Factores que afectan la relación entre carga de parásitos en el huésped y presencia o ausencia de enfermedad.

a) **Inmunidad.**

Se ha demostrado que el desarrollo gradual de la inmunidad se ocasiona como consecuencia de la estimulaciòn con larvas infecciosas (L 3) y aumentan con la edad dado que los animales nacen virtualmente libres de paràsitos y son sometidos paulatinamente al contacto con los paràsitos cuando inician el pastoreo.

La velocidad de esa exposiciòn y el *tamaño de la primoinfección* puede determinar o no sintomatología clínica por lo tanto los animales jovenes son más susceptibles a los efectos del parásito y de strees a que se sometan los animales pueden alterar el estado de inmunidad.

b) **Nutrición**

Es aceptado por estudios serios que se da una interrelaciòn entre el parasitismo y la desnutriciòn por lo cual los paràsitos pueden causar o agravar los estados de desnutriciòn, como la desnutriciòn puede causar baja capacidad para sobrellevar cargas moderadas de paràsitos.

Si se considera que la ganadería mantenida bajo condiciones tropicales tiene como problema primario más la subnutrición o la intolerancia al ambiente, que el mismo parasitismo, también es cierto que un animal con pocas cargas de parásitos debe asimilar mejor los alimentos que otro con mayores cargas parasitarias y aun más cuando la alimentación es tan pober que se procura aprovechar al máximo su potencial nutricional.

c) Raza

Genèticamente existen algunas razas (*Bos indicus*) que son tolerantes tanto a infestaciones parasitarias como a condiciones tropicales y sometidas a pastoreo junto con animales Bos Taurus presentan menos niveles de infestación que los de otras razas.

d) Manejo

Esto es relacionado con la raza pues de acuerdo al enfoque de sistema de producción a que esten sometidos los animales, las actividades de manejo pueden variar y así puede alterar la dinámica poblacional de los parásitos como ocurre en el caso de explotaciones de lechería, cuando se práctica rotación de potreros y ésta coincide con el período de desarrollo de las fases no parasitarias, favorece la transmisión de los parásitos.

e) Patogenicidad del parásito

Patogenicidad de los parásitos es importante como en el caso de *Haemonchus* y *Bunostomun* que pueden provocar anemia intensa.

Cuando se presentan infestaciones mixtas, la interpretación se debe hacer con base en la patogenicidad de los diferentes parásitos, pues algunas veces, aún cuando sean pocos pueden ser muy significativos como en el caso de *Ostertagia* u *Oesophagostomum*, cuyas lesiones pueden ser tan severas que suele ocurrir la muerte del animal antes de que alcancen los Oesophagostomun el estado adulto. También es importante considerar la edad de los animales puesto que los jóvenes son más susceptibles a los efectos del parásito.

El tiempo de permanencia del parásito en el huesped también se debe considerar como en los casos de *Haemonchus, Oesophagostomum, Trichostrongylus* y *Fasciola*

Las tablas recopiladas por Skerman y Wilard (Tablas 2 y 3) para interpretación de recuentos de (Hpg) huevos por gramos, anotan que los datos son de países con niveles nutricionales muy buenos en los animales gran parte del tiempo y que por lo tanto en paises donde las condiciones nutricionales de los animales son pobres, recuentos considerablemente más bajos pueden ser importantes.

El sólo examen de laboratorio no ofrece un diagnóstico preciso del problema parasitario, por lo tanto se debe contar con la información sobre exámenes clínicos, historia, nutrición y manejo de hato, ya que el problema de parásitos no se debe abordar individualmente.

El recuento de huevos por gramos (h. p. g.) de heces se hace para obtener una medida del número de parásitos presentes en el animal vivo. Esto se basa en la producción diaria de huevos de los parásitos. (Tabla 1).

TABLA 1. PRODUCCIÓN DIARIA DE HUEVOS

GENERO	Nº Huevos/día
Nematodirus	50-100
Ostertagia-Trichostrongylus-Cooperia	100-200
Haemonchus	5000-10000
Oesophagostomum, Chabertia	10000
Fasciola	20000
Toxocara	200000-250000

Ejemplo: Si un ternero evacúa diariamente 1000 gramos de heces y el recuento de huevos de parásitos Trichostrongilidos es de 200 h.p.g., entonces la eliminación diaria de huevos es de 200000. Si una hembra produce 200 huevos el recuento representa 1000 adultos hembras.

TABLA 2. GUIA PARA INTERPRETACION DE RECUENTOS DE HUEVOS DE PARARSITOS EN BOVINOS

ESPECIES DE PARASITOS	GRADOS DE INFECCION (huevos por gramos de heces)		
	LIGERA	MODERADA	GRAVE
Infeccion Combinada	100 - 200	200 - 700	700
Haemonchus	200	200 - 500	500
Ostertagia	150	150 - 500	500
Bunostomun	20	20 - 100	100
Cooperia	500	500 - 3000	3000
Oesophagostomum	50 - 150	150 - 500	500
Fasciola	10	10 -25	25 - 50

TABLA 3 GUIA PARA INTERPRETACION DE RECUENTO DE PARASITOS EN BOVINOS

ESPECIES DE PARASITOS	NUMEROS DE PARASITOS (grados de infeccion)			
	LIGERA	MODERADA	GRAVE	FATAL
Parasito Abomaso				
Parasito Intestino Delgado		15000	30000	
Haemonchus	1 - 400	400 - 1000	1000	5000
Ostertagia			20000	20000
Trichostrongylus			20000	20000
Cooperia	1 - 5000	5000 - 10000	10000	25000
Oesophagostomum	1 -100	100 - 1000	1000	250
Bunostomum	1 - 50	50 - 200	200	1000

El simple recuento de huevos del parásito no se debe tomar como medida de infección dado que puede ocurrir enfermedad grave antes de que los parásitos alcancen su madurez sexual y eliminen huevos por ejemplo infecciones por *Nematodirus* en corderos, por *Fasciola, Dictyocaulus* y por *Toxocara.*

En los recuentos de huevos hay muchas variaciones y pueden ocurrir en muestras tomadas al mismo animal el mismo día. Cuando se realiza una suspensión fecal se podría esperar encontrar igual número de huevos en todas las porciones, sin embargo como se mezcla la suspención la distribución de huevos no es uniforme sino que llega a ser al azar mientras se sigue mezclando.

Si la varianza de un conteo de alicuotas llega aser mucho mas grande que el promedio se puede concluir que no fue cuidadosamente hecha la mezcal,la muestra o el recuento, pero si por otra parte la varianza de la muestra es mucho mas pequeña que el promedio se puede concluir que algo ha fallado.

5. CRITERIOS PARA EVALUACION DIAGNOSTICO DE PARASITOS INTERNOS EN BOVINOS

a) Gastroenteritis parasitaria

- Signos clínicos pueden ser aparentes con recuentos menores a 300 hpg.
- En casos severos el recuento puede ser 10 veces mayor.
- Siempre existen aumentos en los valores de plasmapepsinógeno.

b) Fasciolasis crónica

Cualquier recuento de huevos es indicativo de tratamiento.

c) Bronquitis parasitaria

En las infecciones severas masivas no se hallan larvas en las heces. En casos menos agudos los recuentos de ascienden a 500 - 1000 larvas por gramo.

BIBLIOGRAFIA

BORAY, J.C.; & PEARSON, (1990). **The Antihelmintic Efficiency of Tetra Chloro Difluoroettane in Sheep infested with *Fasciola Hepatica.*** Australian Veterinary Journal, 36, 331-337.

BURGUER, H.; & STOYE., J.u.M. (1968). **Parasitologische Diagnostik (Teil 2) Eizahlung und Larvendifferenzierung.** Therapogen Praxisdienst 3.

ECKERT, J. (1960). **Die Diagnose des Magen-Darmstrongylidenbefalles des Schafes durch differenzierung der Freilebenden dritten Larven.** Zbl. Vet. Med., 7, 612- 630.

ICA. (1979). **Manual de Técnicas del programa de Parasitologia Veterinaria y entomologia Veterinaria.** 72p.

ICA- GTZ (1990). **Estado Actual y perspectivas del dianostico en Salud y producción Animal.** Bogotá, pp79-98.