Modificación de las técnicas utilizadas para la recuperación de larvas sobre el pasto

J. BRANDT Y M. T. DEL VALLE

Dpto. Parasitología, Centro Nacional de Salud Animal

Recibido: 22 de octubre de 1976

ABSTRACT. A not complicated technique for the diagnosis of pasture contamination with gastro-intestinal nematode larvae is described. It was applicated in one experience in a from in Havana province. A comparation of our results are made with those of others authors.

RESUMEN. Se describe una técnica poco complicada para diagnosticar la contaminación del pasto con larvas infestivas de nematodos gastro-intestinales, la cual fue aplicada en una experiencia en una unidad de la provincia de La Habana. Se comparan los resultados obtenidos por esta técnica con las reportadas por otros autores.

INTRODUCCION

En la prevención del parasitismo en bovinos el conocimiento de la contaminación de los pastos puede ofrecer una ayuda que permita ampliar la estrategia a seguir.

Varios métodos han sido desarrollados basándose en técnicas conocidas como son: la sedimentación *(Taylor, 1939)* utilizando el método de Baermann, *(1917)* flotación en soluciones de mayor densidad *(Crofton, 1954)* separación del sedimento a través de cribas de malla fina *(Durie, 1959; Donald, 1967; Smeal Hendy, 1972; Niec, 1972).*

Establecer una técnica poco complicada para conocer los niveles de contaminación de larvas sobre el pasto en nuestras condiciones, es el objetivo del presente trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Tijeras curvas, balanza, cubos de 8 l, mallas de 3 mm, agitador, cribas con aberturas de 400 μ, 45 μ y 38 μ, agitador magnético, jeringuillas o pipetas. placas de Petri, porta-objetos, cubre-objetos y copas cónicas.

Las muestras de hierba fueron colectadas siguiendo una trayectoria en forma de W descrita por Taylor, *(1939)* (Fig. 1).

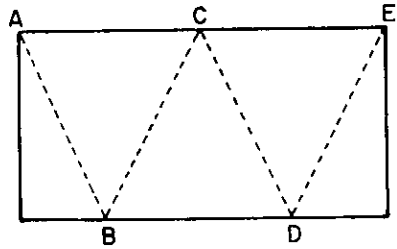


Fig. 1. Trayectoria seguida en forma de W para recoger la hierba.

Se pesa la hierba y se divide en distintos cubos, a los que previamente se les ha colocado a 5 cm del fondo, una malla de 3 mm de abertura. Cada cubo no debe contener más de 80 g de hierba (Fig. 2).

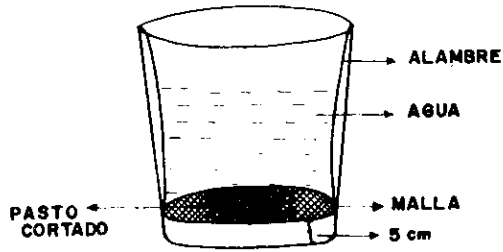


Fig. 2. Cubo con una malla de 3 mm de abertura colocada a 5 cm del fondo.

Se corta la hierba en pequeños pedazos mientras se llena el cubo de agua.

Por medio de un agitador se mueve la hierba durante 10 minutos, dejándola en reposo 10 ó 15 minutos. Esta agitación se repite una vez más. La hierba se deja en reposo durante 3 horas (Fig. 3).

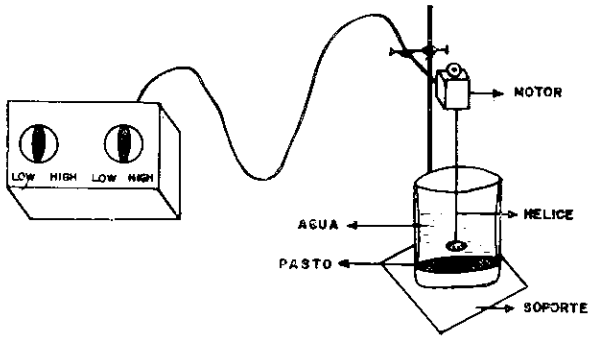


Fig. 3. Agitador utilizado para mover la hierba.

Se eleva la malla con la hierba hasta 5 cm del borde del cubo, dejándola fija de forma tal que la hierba quede debajo del nivel del agua como si fuera un Baermann durante toda la noche (Fig. 4).

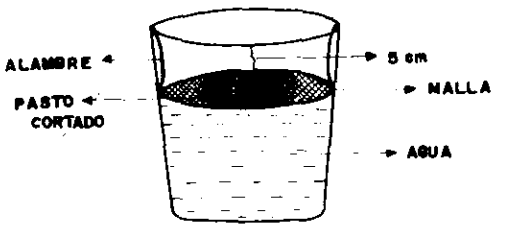
Al día siguiente se trasladan las mallas con la hierba y cada una se fija a 5 cm del borde de un cubo vacío. A esta hierba se le aplica un chorro de agua fuerte, a la vez que se remueve hasta que el cubo se llene de agua. Se exprime la hierba y se elimina.

Se pasan los dos cubos con el sedimento por un sistema de cribas con diámetro de 21 cm y con aberturas distintas, la superior de 400 μ, la segunda de 45 μ y la tercera de 48 μ. Una vez pasado todo el sedimento se limpian los cubos y el agua del lavado se pasa a través del sistema de cribas (Fig. 5).

A la criba superior (400 μ) se le aplica un chorro fuerte de agua que permita que las larvas pasen a través de la malla y se eliminen los residuos.

Se recolecta el sedimento de la segunda (45 μ) y tercera (38 μ) cribas y se limpian con un chorro de agua de manera que el residuo se recoge en una cónica hasta que llegue a 250 ml; con los otros cubos se sigue el mismo procedimiento.

Se unen todos los contenidos de las cepas cónicas.



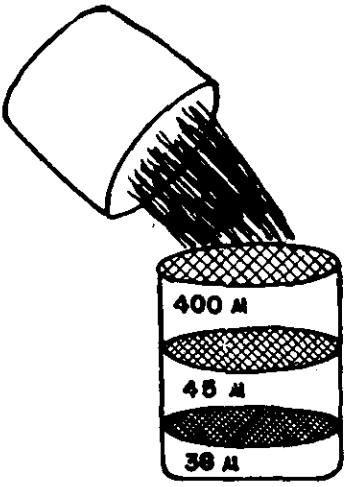


Fig. 4. Cubo con la malla colocada a 5 cm del borde.

Fig. 5. Sistema de cribas con diámetro de 21 cm y de diferentes aberturas.

Se mide la cantidad total de estos lavados y se homogenizan por medio de un agitador magnético. Se toman varias muestras de 5 ml y se colocan en placas de Petri.

Se aíslan las larvas en el estereoscopio y se colocan en porta-objetos para su identificación.

Para calcular el número de larvas por kg de hierba se aplica la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{X. total de ml del lavado. 1,000}}{\text{ml revisados. g de hierba cortada}} = \text{larvas kg de hierba.}$$

X = No. de larvas infestadas encontradas en las muestras tomadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Esta técnica fue utilizada en un cuartón de una unidad de cría de terneros de la Provincia de la Habana, donde los animales están sometidos a un sistema de rotación.

Los resultados fueron los siguientes:

Al salir los terneros del cuartón hemos encontrado 4,090 larvas infestadas/kg de hierba.

14 días después de estar en reposo el cuartón, el total fue de 3,770 larvas infestadas/kg de hierba.

A los 28 días de salir los terneros 1,250 larvas infestivas/kg de hierba.

A los 36 días coincidiendo con el retorno de los terneros al cuartón la contaminación del pasto encontrado fue de 2,000 larvas infestivas/kg de hierba.

Hemos pasado 2,420 larvas infestivas por las 3 cribas practicando los puntos Nos. 8 y 9. Los resultados son los siguientes:

En la criba de abertura de 45 μ, la recuperación de las larvas fue de 1,860 o sea 76.8% del número original.

En la criba inferior (38 μ) la recolecta fue de 143 larvas (5.9% del número original).

El número de larvas recolectadas en ambas cribas fue de 82.7% del número inicial.

Por lo que calculamos la pérdida en esta etapa de la técnica de 17.3%.

Esta técnica fue comparada con la descrita por Parfitt *(1955)*. Se obtuvieron muestras homogéneas de pasto para las dos técnicas utilizadas. Los resultados obtenidos por nuestra técnica fueron más del doble de las recuperadas por el método de Parfitt.

Hemos probado de separar las larvas infestivas de las de vida libre siguiendo el método de Shorb, *(1937)* citado por Pandey, *(1972)* quien añadió iguales cantidades de ClH al 2% para matar los nematodos de vida libre y Pandey, *(1972)* que utilizó 3 gotas de ClH conc. en 5 ml

de suspensión. Ambos autores reportan que las larvas de vida libre mueren superviviendo las infestivas y de esta forma se facilita el aislamiento. Utilizando estos métodos hemos observado igual resistencia en larvas de vida libre e infestivas. Iguales resultados fueron obtenidos utilizando el método de Taylor, *(1939)* para separar las larvas infestivas sobre un papel de filtro basándose en la mayor resistencia de las larvas infestivas contra la sequía en comparación con las larvas de vida libre. Esto puede indicar que la resistencia de las larvas de vida libre en condiciones subtropicales es distinta que la descrita en otros países.

El peso de la hierba es relativo por el hecho de estar más o menos húmeda. La cantidad de larvas encontradas por supuesto no es absoluta pero nos da un índice de los niveles de contaminación.

CONCLUSIONES

Se describe una modificación de las técnicas utilizadas para la recuperación de larvas infestivas de nematodos gastro-intestinales en el pasto, la cual se aplicó en un experimento realizado en una unidad de cría de terneros donde los animales están sometidos a un sistema de rotación obteniéndose resultados positivos con la misma. A los 36 días coincidiendo con un retorno de los animales al cuartón, la contaminación del pasto fue de 2,000 larvas infestivas/kg de hierba.

Utilizando diferentes métodos para su aislamiento se observó igual resistencia tanto en las larvas de vida libre como en las infestivas.

REFERENCIAS

BAERMANN G. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylosto mum (Nematoden) Larren in Erd proben Geneesk. *Tidjschr-Nederl-Indie*, 57, 131, 1917.

CROFTON H.D. The Ecology of the immadure phases of Trichostrongyle parasites-V. The estimation of pasture infestation. *Parasitology*, *44*, 313, 1954.

DONALD A.D. A technique for the recovery of Strongyloid infestive larvae from small sample units of a pasture. *Journal of Helminthology*, *XLI*, 1, 1967.

DURIE P.H. A new technique for the recovery of infective strongyle larvae from soil and pasture. *Journal of Helminthology*, *XXXIII*, 189, 1959.

NIEC R. Método de recuperación de larvas infectantes de nematodes parásitos de los pastos. *Rev. Med. Vet. 53*, 289, 1972.

PANDEY V. J. Contributions to the study of gastro-intestinal nematodes of cattle. Thesis for the award of the Degree of Docteur in Sciences, 1972.

PARFITT J. W. Two techniques used for the detection and enumeration of the larvae of Dictyocaulus viviparus in faeces and herbage. *Laboratory practice, No. 4,* 15, 1955.

SMEAL M. G., HENDY G. H. A technique for the recovery of Strongyloid infective larvae from pasture. *Journal of Helminthology, XLXVI,* 201, 1972.

TAYLOR E. L. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. *Parasitology, 31,* 473, 1939.