

Instituto "López-Neyra" de Parasitología (C.S.I.C.)
Sección de Helmintología. Laboratorio de Parasitología Veterinaria
y
Departamento de Parasitología (1). Universidad de Granada
Granada. España

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE TECNICAS DE MONTAJE
Y BIOMORFOLOGIA DE LA SUBFAMILIA OSTERTAGINAE,
LOPEZ-NEYRA, 1947, PARASITOS DE OVIS ARIES (L.) EN
GRANADA (ESPAÑA) (*)

por
ROMERO RODRIGUEZ, J. (*) y VALERO LOPEZ, A. (**)

SUMMARY

The Ostertaginae is studied in *Ovis aries* (L.) of Granada, from the bicomorphologic point of view, finding the following index of infestation.
Ostertagia spp. 89,2 %; *O. circumcincta*, 100 %; *O. trifurcata* 15,2 %;
O. (Marshallagia) marshalli, 5,1 %; *O. (Mouflonagia) podjapolsky*, 1,7 %.

INTRODUCCION

Consideramos de interés el estudio de los Ostertaginae en el hospedador *Ovis aries* (L.), por el alto grado de parasitación de este herbívoro por estos Nematodos (89,2 %).

Otra razón por la que se estudia esta subfamilia, creada por LOPEZ-NEYRA (7), basándose en el carácter distintivo fundamental: "La presencia de bolsa accesoria", es que no está totalmente admitida por muchos autores, como: NEVEU-LEMAIRE, TRAVASSOS, YAMAGUTI (8), (16), (17), quienes conceptúan a los Ostertagia como género de la subfamilia Trichostrongylinae, aunque resaltando el carácter antes citado.

(1) Catedrático-Director (Instituto y Departamento) y Jefe de la Sección: Prof. Guevara Pozo.

(*) Tesina de Licenciatura, Dirección: Dr. Romero Rodríguez, Profesor Agregado Interino del Departamento.

(**) Licenciada en Ciencias Biológicas y Profesora Adjunta del Departamento.

De acuerdo con ROMERO RODRÍGUEZ (10), (11), las especies hasta ahora denunciadas en España, conteniendo entre paréntesis el autor español de su denuncia, son los siguientes:

Ostertaginae:

- a) Ostertagia: *O. circumcincta*, Stadelmann, 1894
 - 1.ª cita española: (Cordero del Campillo, 1956).
 - O. trifurcata*, Ransom, 1907
 - 1.ª cita española: (Carballeira Tella, 1957).
 - O. crimensis*, Kadenazii y Andreeva, 1958
 - 1.ª cita española: (Simón Vicente, 1964).
- Parasitando a ovinos y caprinos.
 - O. ostertagi*, Stiles, 1892
 - 1.ª cita española: (López Neyra, 1947).
- Parasitando a bovinos.
- a₁) Grospiculagia: *G. lirata*, Sjöberg, 1926
 - 1.ª cita española: (Simón Vicente, 1962).
- Parasitando a bovinos.
 - G. occidentalis*, Ranson, 1907
 - 1.ª cita española: (Simón Vicente, 1964).
- Parasitando a ovinos.
- a₂) Mouflonagia: *M. podjapolsky*, Schulz, Andreeva y Kadenazii, 1954
 - 1.ª cita española: (Simón Vicente, 1964).
- Parasitando a ovinos y bovinos.
- a₃) Marshallagia: *M. marshalli*, Ransom, 1907
 - 1.ª cita española: (Cordero del Campillo, Simón Vicente, Fernández, 1960).
- Parasitando a ovinos y caprinos.

MATERIAL Y METODOS

I) Recogida de muestras

Para obtener los nematodos objeto de este estudio, hemos observado el cuajar del ganado ovino procedente del Matadero Municipal de Granada, donde se ha efectuado la siguiente metodología: Trasladar todas las ingestas del cuajar a un recipiente adecuado. Raspar ligeramente la superficie mucosa para asegurar la transferencia completa de los vermes.

Añadir varios litros de agua, mezclar y dejar en reposo durante 5 minutos para que los gusanos y residuos pesados sedimenten en el fondo; a continuación decantar la porción que sobrenada. Repetir este proceso hasta que el sedimento se halle integrado tan solo por vermes y residuos de ingesta voluminosa.

Transferir el sedimento a una placa grande de Petri y examinar por transiluminación. Si los nematodos proceden del cadáver de un animal muerto recientemente, desplegarán gran actividad a medida que se calienta la placa y pueden identificarse y tomarse fácilmente con un pincel para examen más detenido.

Para obtener el cálculo del número de vermes hacemos lo siguiente:

Transferir el sedimento lavado a un recipiente graduado lleno hasta capacidad de un litro.

Agitar la suspensión cuidadosamente y retirar una alicuota de 50 ml.

Verter dicha alicuota en una placa de Petri y extraer los vermes, refiriendo el número encontrado al total de 1.000 ml.

II) Métodos de observación nematológica

De acuerdo con las normas seguidas en el Laboratorio de Veterinaria del Instituto López-Neyra de Parasitología, antes de la fijación se ponen los vermes en solución salina al 9 por mil, durante 24 horas, con el fin de que pierdan vitalidad y la fijación no se realice de una manera drástica.

I.—Fijación

- a) Procedimiento de Loos, según NEVEU-LEMAIRE (8)
- b) Líquido de Bouin, según SCHELL, C. S. (12)
- c) Formol al 10 por ciento, según LANGERON, M. (6).

II.—Aclaramiento

- a) Método de glicerina, según SCHELL, C. S. (12)
- b) Método del fenol al 88 por ciento, según SCHELL, C. S. (12)
- c) Método de lactofenol, según SCHELL, C. S. (12)
- d) Metodología propia (adaptación de la técnica de SEINHORST).

Reactivos:

Solución I:

Alcohol 96°	20 partes
Glicerina anhidra	1 parte
Agua destilada	79 partes

Solución II:

Alcohol 96°	95 partes
Glicerina anhidra	5 partes

Metodología

Los nematodos una vez muertos y fijados, se ponen en la Solución I, manteniéndolos en un desecador a 30°C. Tiempo de permanencia 12 horas.

Posteriormente se llevan a la Solución II y se mantienen en la estufa a 40°C. tres horas. Finalmente se llevan a un desecador con cloruro cálcico escoriforme.

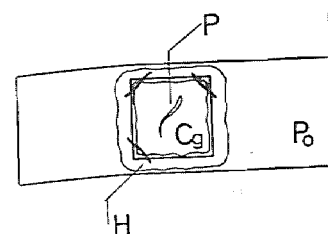
Preparaciones fijas

Se coloca una gota de glicerina anhidra en el centro del portaobjetos, y encima el nematode adaptado a dicho medio, en las cuatro esquinas se pone un trozo de hilo de nylon para impedir que el cubreobjetos oprima al verme, la cantidad de glicerina debe ser suficiente pero teniendo cuidado de que no sobresalga por los bordes (dibujo núm. 1).

Se coloca una gotita de gliceel sobre los cuatro vértices del cubreobjetos, se espera unos momentos, seguidamente se recubre con una pequeña capa las aristas del cubreobjetos, formando una película de cierre entre portaobjetos y cubreobjetos.

RESULTADOS

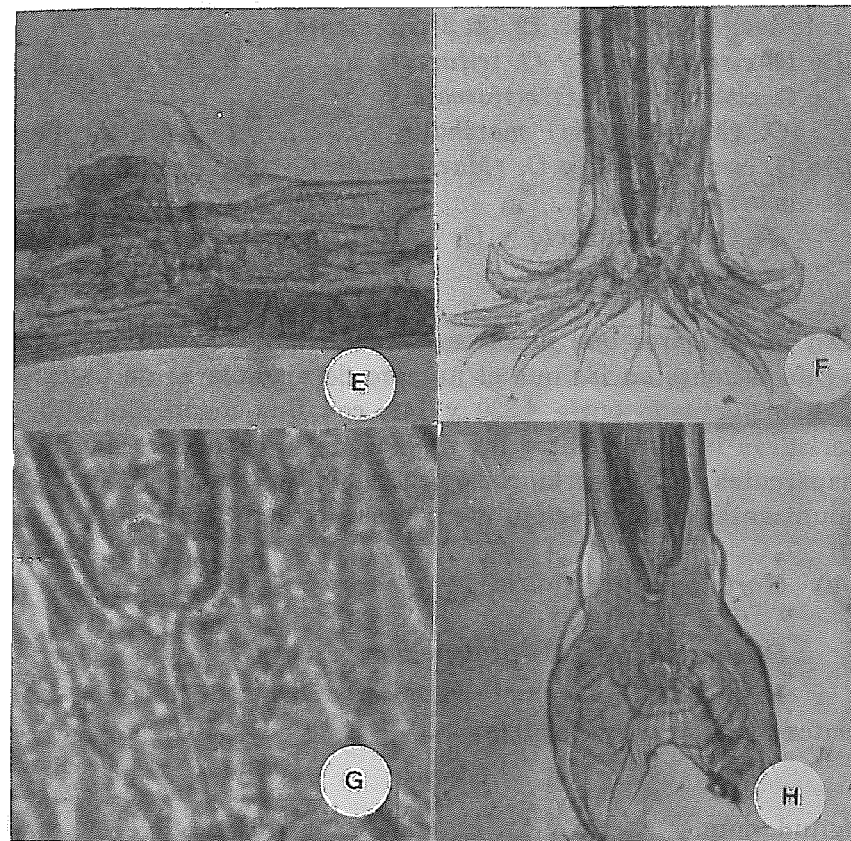
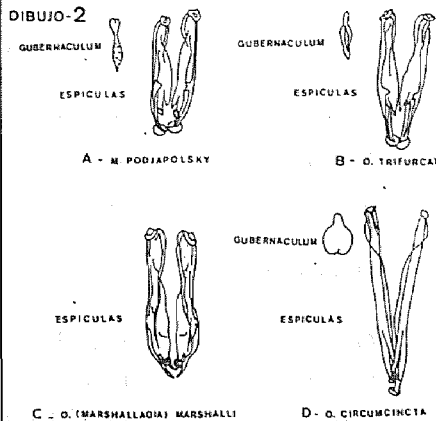
A partir de los nematodes obtenidos en nuestras experiencias, hemos efectuado, por un lado, el estudio biomorfológico, con los siguientes aspectos:



P_o = Portaobjetos
C_g = Cubreobjetos -Glyceel
P = Parasito
H = Hilos-nylon

DIBUJO-1

DIBUJO-2



Dibujo 1 — Preparación fija terminada.

Dibujo 2 — A) Gubernaculum y espiculas de *O. (M.) podjapolsky*

B) Gubernaculum y espiculas de *O. trifurcata*.

C) Espiculas de *O. (M.) marshalli*.

D) Gubernaculum y espiculas de *O. circumcincta*.

Fotomicrografía E - Región vulvar de *O. circumcincta* (momento de ovopostura). Fotomicrografía F - Extremidad posterior del macho de *O. circumcincta*. Fotomicrografía G - Gubernaculum de *O. circumcincta*. Fotomicrografía H - Extremidad posterior del macho de *O. trifurcata*.

a) *Índice de infestabilidad*

Número de cuajares vistos... 65
Ostertagia spp. ... 59 positivos

Con las siguientes especies:

O. circumcincta... 58 positivos
O. trifurcata ... 9 positivos
O. (Marshallagia) marshalli... 3 positivos
O. (Mouflonagia) podjapolsky ... 1 positivo

Infestaciones puras: 46 (79,3 por ciento); precisamente de *O. circumcincta*.

Infestaciones mixtas: 12 (21,5 por ciento).

De *O. circumcincta* y *O. trifurcata* ... 8 (13,7 por ciento)

De *O. circumcincta*, *O. trifurcata* y

O. (Marshallagia) marshalli ... 1 (1,7 por ciento)

De *O. circumcincta* y *O. (Marshallagia)*

marshalli ... 2 (3,4 por ciento)

De *O. circumcincta* y *O. (Mouflonagia)*

podjapolsky ... 1 (1,7 por ciento)

En los cuajares que nosotros hemos examinado nos han aparecido infestaciones en las que el número de ejemplares de *Ostertagia* spp., han fluctuado entre 4.220 y 141, con una media de 1.073, características incluidas entre las propias de infestaciones subclínicas o inaparentes con importancia epizootiológica (portadores y efectos premunizantes, autocuración, etc.), véase GEORGY (5).

b) *Morfología parasitaria*

Dimensiones de O. circumcincta

El número de ejemplares observados es de 113, con las siguientes medidas como medias:

	Macho	Hembra
Longitud, mm. ...	7-8,5	10-11,5
Anchura, micras ...	140	200
Anchura de la cabeza, micras ...	19	
Anillo nervioso, micras ...	250	
Papilas cervicales, micras ...	318	
Longitud esófago, micras ...	630	
Espículas, micras Dibujo 2-D) y Fotmc. F.	340	

Gubernaculum, micras Dibujo 2-D) y Fo-

tomic. G ... 90 × 30

Costilla dorsal, micras Fotomicrografía F ... 105

Tronco, micras Fotomicrografía F ... 60

Vulva, micras Fotomicrografía E ... 48

Distancia vulva-cola, mm. ... 2,6

Distancia ano-cola, micras ... 158

Huevos, micras ... 95 × 45

Dimensiones de *O. trifurcata*.

Media de 23 ejemplares:

	Macho	Hembra
Longitud, mm. ...	8	9
Anchura, micras ...	150	140
Anchura cefálica, micras ...	18	18
Anillo nervioso, micras ...	245	
Papilas cervicales, micras ...	300	
Longitud del esófago, micras ...	630	
Espículas, micras Dibujo 2-B) Fotomic. H.	245	
Gubernaculum, micras Dibujo 2-B) Fo-		
tomicografía H ...	89 × 17	
Costilla dorsal, micras...	90	
Tronco de la costilla dorsal, micras...	52	
Vulva-cola, mm. ...		1,6
Cola-ano, micras ...		120
Huevos, micras ...		87 × 45

Dimensiones de *O. (Marshallagia) marshalli*

Media de 10 ejemplares:

	Macho	Hembra
Longitud, mm. ...	12	17
Anchura máxima, micras ...	200	214
Anchura cefálica, micras ...	19	20
Anillo nervioso, micras ...	280	
Papilas cervicales, micras ...	400	393
Longitud esófago, micras...	772	
Anchura posterior esófago, micras...	59	

Espículas, micras (Dibujo 2-C)	260	
Costilla dorsal, micras... ..	305	
Bifurcación, micras	240	
Costilla bolsa accesoria, micras... ..	60	
Región vulvar, micras... ..		718
Vulva-cola, mm.		2,6
Ano-cola, micras		267
Huevos, micras		185 × 81

Dimensiones de *O. (Mouflonagia) podjapolsky*
Media de 3 ejemplares medidos:

	Macho	Hembra
Longitud, mm.	7,8	
Anchura, micras	130	
Papilas cervicales, micras	340	
Esófago, micras	833	
Espículas, micras (Dibujo 2-A)... ..	216	
Gubernaculum, micras (Dibujo 2-A) ...	63	
Costilla dorsal, micras... ..	130	

Este nematode nos ha aparecido en infestaciones mixtas y las características de la hembra no claramente definidas en las descripciones consultadas, no nos han permitido poder obtener datos dimensionales, por dificultad de diagnóstico de dicho sexo.

DISCUSION

I) De las técnicas

Según nuestra experiencia, consideramos como método más eficaz para la fijación de nematodes el de Loos, usando una pequeña variación, ya que previamente a la fijación por alcohol caliente, hemos mantenido a los ejemplares durante 24-48 horas en solución salina al 9 por mil. En este caso disminuye la actividad del verme realizándose la fijación de una manera menos drástica, y el resultado es más satisfactorio.

En cuanto al método más apropiado para aclarar nematodes es el que señalamos como metodología propia. Con esta técnica el aclarado de los vermes es completo, pudiéndose observar las estructuras internas.

II) Medidas

En *O. circumcincta* los datos concuerdan con los dados por BAYLIS (1) y los restantes con los de CORDERO DEL CAMPILLO (2) en los ejemplares por este autor encontrados en la provincia de Valladolid.

En *O. trifurcata*, las dimensiones con las dadas por DAUBNEY (4) y NEVEU-LEMAIRE (8) precisamente para la descripción de *O. pinnata*.

En cuanto a la que respecta a la hembra, aunque en nuestras experiencias sólo hemos encontrado infestaciones mixtas, las hemos diferenciado por distintas dimensiones mensurables que hemos estudiado.

III) Indices de Infestabilidad

SIMON VICENTE (15), indica para *Ostertagia* un índice de infestabilidad aproximado del 90 por ciento. En los trabajos realizados en el Instituto López-Neyra de Parasitología (Laboratorio de Veterinaria) y publicados en 1972, se han obtenido índices del 88,5 por ciento. Cifras todas ellas de acuerdo con el índice que nosotros damos 89,2 por ciento.

CONCLUSIONES

1) Efectuamos un estudio de montaje para observación microscópica de ejemplares, basados en experiencias de otros autores y en las propias, para conseguir mejor observación de los *Ostertagia* estudiados.

2) Realizamos unas medidas de la morfología propia de cada uno de los *Ostertaginae* estudiados.

3) Se estudia la infestabilidad de los *Ostertaginae* en Granada (España) para *Ovis aries* (L.), observando que es el 89,2 por ciento.

4) Se compara los índices de infestabilidad y especies encontradas, con las de otros autores españoles y se aprecian diferencias mínimas, que demuestran el alto grado de extensión e incidencia que este parasitismo tiene en el ganado ovino español.

RESUMEN

Se estudia la familia *Ostertaginae* en *Ovis aries* (L.) de Granada, desde el punto de vista biomorfológico, encontrando los siguientes índices de infestabilidad.

<i>Ostertagia spp.</i>	89,2 por ciento
<i>O. circumcincta</i>	100 por ciento
<i>O. trifurcata</i>	15,5 por ciento
<i>O. (Marshallagia) marshalli</i>	5,1 por ciento
<i>O. (Mouflonagia) podjapolsky</i>	1,7 por ciento

REFERENCIAS

- 1.—BAYLIS, H. A. (1956).—The fauna of British India. Nematoda. Vol. I. Ascaroidea y Strongyloidea, pp. 367-369.
- 2.—CORDERO DEL CAMPILLO (1956).—Denuncia en España de *Ostertagia circumcincta* (Stadelman, 1894) Ransom, 1957, y *Trichostrongylus vitrinus* Loos, 1905, en *Ovis aries* (L.) de la provincia de Valladolid. Rev. Iber. Parasitol., 16 (2), pp. 253-265.
- 3.—CORDERO DEL CAMPILLO y cols. (1959).—Hallazgo de *Marshallagia marshalli* (Ransom, 1907) Orlov, 1933, en ovejas de León y Valladolid y cabras de Salamanca. An. Fac. Vet. León, 5: pp. 71-78.
- 4.—DAUBNEY, R. (1933).—*Trichostrongylus* nematodes from sheep in Kenya. Parasitology, 25, pp. 244-251.
- 5.—GEORGY JAY, R. (1972).—Parasitología animal. Ed. Interamericana, 1.ª Ed., pp. 80.
- 6.—LANGERON, M. (1949).—Precis de Microscopie. Masson et Cie, Editeurs, pp. 947.
- 7.—LOPEZ NEYRA (1947).—Helminths de los vertebrados ibéricos, 2 pp.: 651.
- 8.—NEVEU-LEMAIRE (1936).—Traité d'Helminthologie Médicale et Veterinaire. Ed. Vigor Freres, pp. 1014, 1016, 1021.
- 9.—ROMERO RODRIGUEZ, J. (1967).—Estudio experimental sobre el *P. ambiguus*. Ed. Avigan, pp. 20.
- 10.—ROMERO RODRIGUEZ, J. (1968).—Síntesis de Nematología Veterinaria. Avigan, núm. 186, pp. 2-7.
- 11.—ROMERO RODRIGUEZ, J. (1970).—Contribución al estudio de los Nematodos gastro-intestinales de los rumiantes domésticos. Avigan, núm. 221, pp. 8-18, Valencia. (Comunicación II Congreso Mundial de Parasitología).
- 12.—SEHELL, C. S. (1969).—Manual de Laboratorio en Parasitología. Ed. Academia, pp. 190. León.
- 13.—SIMON VICENTE (1962).—Nematodes Trichostrongylidae en los rumiantes domésticos españoles. Rev. Iber. Parasitol., 23, pp. 97-106.
- 14.—SIMON VICENTE (1963).—Otros Ostertaginae (Nematoda: Trichostrongylidae) de los óvidos y bóvidos en España. Rev. Iber. Parasitol., 23, pp. 63-78, 185-189.
- 15.—SIMON VICENTE (1964).—Mapa Parasitológico. Pub. IOATO. Salamanca.
- 16.—TRAVASSOS, L. (1937).—Revisão da família Trichostrongylidae Leiper, 1912. Monografias del Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.
- 17.—YAMAGUTI (1961).—Sistema Helminthum. Interscience Publishers. New York. 3 pp. 433.

Instituto "López-Neyra" de Parasitología
Sección de Protozoología. Laboratorio de Parasitología Veterinaria
y
Departamento de Parasitología (Universidad de Granada) (*)

ESTUDIO DE LA EIMERIA HUNGARICA PELLERDY, 1956

por

ROMERO RODRIGUEZ, J. (**)

SUMMARY

Eimeria hungarica Pellerdy, 1956 is studied in Granada, Spain, from *Lepus granatensis* (R.) and *Oryctolagus cuniculus ferox* (L.).

ANTECEDENTES

Entre las eimeriosis intestinales de los Lagomorpha en su extremo inferior de variabilidad dimensional (alrededor de 14-15 micras) y con una forma esférica o subesférica, carentes de micropilo, tenemos las siguientes especies admitidas, según PELLERDY (5):

— *Eimeria exigua*, Yakimoff 1934.

Hospedador: *Oryctolagus cuniculus domestica* (L.)

— *Eimeria hungarica*, Pellerdy 1956.

Hospedador: *Lepus europaeus* (L.).

— *Eimeria minima*, Carvalho 1943.

Hospedador: *Sylvilagus (Silvilagus) floridanus mearnsii* (A.)

El autor citado no admite y conceptúa sinónimas de *E. hungarica* a la *E. orbiculata* descrita en Francia por LUCAS, LARROCHA y DURAND (1959), así como la *E. exigua variedad septentrionalis*, MADSEN (1938).

Las diferenciaciones de estas especies aparte de la fundada en la especificidad de hospedador (?), se basa en los siguientes aspectos:

Eimeria exigua, carece de cuerpo residual ooquistico.

Eimeria hungarica, con un residuo ooquistico consistente en uno o dos gránulos (fotomicrografía M₂ →).

(*) Catedrático-Director (Instituto y Departamento) y Jefe de la Sección: Prof. GUEVARA POZO, D.

(**) Celaborador Científico y Profesor Agregado Interino.