

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**EFICACIA DE LA SOLUCIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO AL 1% APLICADA
SOBRE LAS PASTURAS PARA EL CONTROL DE LARVAS INFECTANTES DE
LOS NEMÁTODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS**

Por

**ARGIBAY CASANOVA, Ana Laura
LARA MARFETÁN, Stephanie Yohana**



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias.
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: ENSAYO EXPERIMENTAL



FV-29064

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2011**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tutor de Tesis de Grado



Prof. Oscar Correa

Tesis de Grado aprobado por:

Presidente de Mesa:



Dra. Perla A. Cabrera

Segundo Miembro (Tutor):

Prof. Oscar Correa

Tercer Miembro:

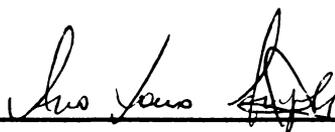


Dr. Daniel Castells

Fecha:

23 de Mayo de 2011

Autores:



Laura Argibay



Stephanie Lara

FACULTAD DE PSICOLOGÍA Y PSICOLOGÍA CLÍNICA

Aprobado por: 10 (diez) 

AGRADECIMIENTOS

A nuestro tutor Oscar Correa, por aportar sus conocimientos, su colaboración y por darnos la posibilidad de realizar esta tesis vinculada a un área de nuestro interés. Gracias por su generosidad al brindarnos un espacio de aprendizaje en un marco de confianza y afecto.

A la Dra. Elena de Torres y al Dr. Luis Cal, por facilitarnos las instalaciones así como los animales del Campo Experimental N° 2 de Facultad de Veterinaria.

Al Prof. Sebastián González perteneciente a la Escuela de Maquinaria Agrícola de Libertad y a la Flia. Amorelli, por el préstamo de la maquinaria indispensable para el trabajo de campo.

Al Sr. Gustavo Cazard, por su valiosa colaboración y buena voluntad en las actividades de campo.

Al Dr. Rodolfo Ungerfeld, por orientarnos y ayudarnos en la comprensión del análisis estadístico de este estudio.

A todos los docentes que participaron en nuestro desarrollo profesional durante toda la carrera.

A nuestras familias y amigos, por sus consejos, por estar presente en los momentos difíciles, compartir nuestras alegrías y por ser parte esencial en nuestras vidas. Gracias por su cariño, apoyo incondicional y comprensión a lo largo de este camino, que definitivamente no hubiese podido ser realidad sin ustedes.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
TABLA DE CONTENIDO	
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS.....	IV
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
• Ciclo Biológico.....	4
• Epidemiología.....	5
• Patogenia.....	6
• Control Químico.....	7
• Resistencia Antihelmíntica.....	12
• Control no químico.....	13
- Animales Resistentes.....	13
- Vacunas.....	14
- Taninos.....	15
- Manejo de Pasturas.....	16
- Desparasitación selectiva (sistema FAMACHA).....	18
- Empleo de partículas o agujas de Cobre.....	18
- Uso de plantas con propiedad antihelmíntica.....	19
- Control Biológico.....	20
• Hipoclorito de sodio.....	21
OBJETIVOS.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
RESULTADOS.....	29
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figuras

Figura 1: Evolución de Hpg en la primera etapa.....	29
Figura 2: Evolución de Hpg en la segunda etapa.....	29
Figura 3: Evolución de Hpg en la tercera etapa.....	30
Figura 4: Evolución de Peso vivo en la primera etapa.....	32
Figura 5: Evolución de Peso vivo en la segunda etapa.....	32
Figura 6: Evolución de Peso vivo en la tercera etapa.....	33
Figura 7: Efecto del Hipoclorito de sodio sobre las L3 de ovinos en las pasturas..	33
Figura 8: Parcelas previo a la aspersion.....	34
Figura 9: Modo de aspersion.....	34
Figura 10: Parcelas 5 días postaspersion.....	34
Figura 11: Media Geométrica de larvas recuperadas en los diferentes coprocultivos.....	35
Figura 12: L3 de ovinos/Kg. pasto seco en relación al volumen de NaOCl.....	36
Figura 13: NVL/Kg. pasto seco en relación al volumen de NaOCl.....	36

Tablas

Tabla 1: Cronograma de aspersion de los coprocultivos.....	27
Tabla 2: Valores de MG de Hpg en la primera etapa.....	29
Tabla 3: Valores de MG de Hpg en la segunda etapa.....	30
Tabla 4: Valores de MG de Hpg en la tercera etapa.....	30
Tabla 5: Porcentajes de larvas por género parasitario de los coprocultivos.....	31
Tabla 6. Número de larvas recuperadas de los coprocultivos.....	35

RESUMEN

Con el fin de estudiar la eficacia del Hipoclorito de Sodio al 1% sobre las larvas infectantes de los nemátodos gastrointestinales de ovinos en las pasturas, se realizó un estudio a campo que se llevó a cabo en tres etapas. En la primera etapa se formaron tres grupos de 10 a 15 borregos. Se introdujo el grupo control (G1) en el brete no tratado y los dos grupos restantes (G2 y G3) en los bretes donde se asperjó Hipoclorito de sodio al 1%. Los animales ingresaron a los bretes con valores de Hpg menores a 40. Luego de 15 días y a intervalos semanales se pesaron los animales y se obtuvieron muestras de materia fecal para conteo de huevos por gramo y coprocultivos. Se recolectaron y procesaron muestras de pasto de todos los bretes para obtener la relación de larvas infectantes por kilogramos de pasto seco (L3/kg.p.s). En la segunda y tercer etapa se formaron dos grupos de 10 animales cada uno, uno testigo (G1) y otro de prueba (G2). Los procedimientos fueron los mismos que en la primera etapa a excepción de la recolección de pasto.

Por otro lado, se evaluó el efecto que producen diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio (0,5, 1, 4 y 10%) sobre 4 parcelas de 1m² a un volumen constante de 200 ml. Además se estudió el consumo de pasturas expuestas al Hipoclorito de sodio al 1 % en tiempos decrecientes por parte de 2 ovinos estabulados. También se estudió el efecto que ejerce el Hipoclorito de sodio al 1 % en el desarrollo de huevo a larva infectante en cultivos de materia fecal y se probó la misma solución en distintos volúmenes, en diferentes tipos y largos de pasturas. De las tres etapas, sólo se obtuvieron diferencias significativas en los recuentos de Hpg entre los grupos a prueba y el grupo control ($P > 0.05$) en el día 39 de la primera etapa. *Haemonchus contortus* fue el género de mayor prevalencia durante este estudio. En la primera etapa no existieron diferencias significativas en la ganancia de peso de los distintos grupos ($P > 0.05$) sin embargo si se encontraron ($P < 0.05$) en el último muestreo de la segunda etapa y en los tres últimos muestreos de la etapa final. Se obtuvieron a las 24 horas postaspersión, 54-67% menos L3/kg.p.s. en los bretes tratados que en el brete control. Al comparar las parcelas asperjadas con Hipoclorito al 0.5 y 1% con las parcelas control no se observaron grandes diferencias. Los animales no se rehúsan a ingerir la pastura expuesta al Hipoclorito en los distintos tiempos. El Hipoclorito de sodio *in Vitro* fue efectivo sobre todos los estadios extraparasitarios. Cuando el pasto es corto, 100 ml de Hipoclorito de sodio al 1% fueron suficientes para obtener una reducción mayor al 50% en la recuperación de larvas. En cambio en las pasturas largas no se obtuvieron resultados concluyentes. La solución de Hipoclorito de sodio al 1% podría ser una herramienta nueva para el control integrado de nemátodos gastrointestinales de ovinos.

SUMMARY

With the aim of studying the efficacy of sodium hypochlorite at 1% on infecting larvae of gastrointestinal nematodes of sheep in the pasture, research have been made in a field essay which consisted in three stages. In the first stage three groups of 10 to 15 sheep were formed. Control group (G1) was introduced in the untreated paddock while the two remaining groups (G2 and G3) were introduced in the paddocks where sodium hypochlorite at 1% was dabbled. When the animals entered in the paddocks, they have values of egg counts per gram (Epg) below 40. Within 15 days and weekly gaps animals were weighted and faecal samples were collected with the aim to count egg per gram and make faecal culture. Grass samples from each paddock were collected and processed to obtain the relation of infective larvae per kilogram dry herbage (L3/kg.d.h). In the second and thrid stage two groups were formed with 10 sheep each, one control (G1) and another test (G2). The procedures were the same as in the first stage apart from the grass collection. On the other hand, we evaluated the effect produced by different concentrations of sodium hypochlorite (0.5, 1, 4 and 10%) on 4 plots of 1m² at a constant volume of 200 ml. Furthermore, we studied the intake of pasture exposed in a decreasing period to sodium hypochlorite at 1% by 2 stabled sheep. Moreover, we studied the effect sodium hypochlorite at 1% caused in the development from egg to infective larvae in faecal culture and also we tested the same solution at diferents volumes, types and lengths of pasture. From the three stages, significant differences were only obtain in Epg counts between test groups and control groups ($P > 0.05$) on the 39th day in the first stage. *Haemonchus contortus* was the most prevalent genus during this study. In the first stage, there were no significant differences in weight gains at different groups ($P > 0.05$), however, in the last sampling of the second stage and in the last three samplings of the final stage they were found ($P < 0.05$). We obtained 54% and 67% lower L3/Kg.d.h. in the paddocks 24 hours after dabbling than in the control paddock. By making a comparasion between the plot sprayed with hypochlorite at 0.5 and 1% and the control plot not many differences were observed. Animal do not refuse to intake pasture exposed to different periods of hypochlorite. Sodium hypochlorite was effective *in Vitro* on all non parasitic stages. When the grass is short, 100 ml sodium hypochlorite at 1% were enough to obtain a decrease over 50% in larval recovery. Otherwise, long pasture results were not conclusive. Sodium hypochlorite solution at 1% might be use as a new tool for an integrated control of gastrointestinal nematodes in sheep.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones con nemátodos gastrointestinales son unas de las enfermedades parasitarias más prevalentes que afectan a los pequeños rumiantes en todo el mundo (Torres-Acosta y Hoste, 2008).

Los parásitos gastrointestinales afectan la producción ovina, ocasionando pérdidas económicas de magnitud, al disminuir significativamente la producción de lana y carne. El control de los mismos se ha realizado fundamentalmente con el uso de productos químicos. El uso incorrecto y continuo de las drogas antihelmínticas, ha generado importantes problemas de resistencia de los parásitos a las mismas (Bonino, 2003).

La resistencia antihelmíntica está presente cuando en una población hay una mayor frecuencia de nemátodos capaces de tolerar la dosis terapéutica recomendada de una droga, en relación con una población normal de la misma especie y es a causa de una modificación genética (Prichard y col., 1980).

Es por esta razón que actualmente se habla de *Control integrado de parásitos* (CIP), apuntando a una disminución en la frecuencia del uso de drogas y a la integración de otras medidas de control, tales como selección de animales resistentes, desarrollo de vacunas, control por organismos vivos (hongos nematófagos), manejo de la alimentación (taninos), el manejo de pastoreo y otras.

Diversas investigaciones realizadas *in Vitro* han documentado la eficacia de la solución de Hipoclorito de sodio como agente desenvainante de las larvas infectantes (L3) de los nemátodos (Titoy y Van Rensburg, 1997; Van Wyk, 1998; Howell y col., 1999; Amir, 2007). Debido a su accionar las larvas pierden su motilidad así como su protección ante factores externos.

Además, en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, se realizó un micro-ensayo destinado a probar la solución sobre pasturas infestadas que luego fueron pastoreadas por ovinos dando resultados favorables (Correa O., 2009 Comunicación personal).

Nuestro interés fue el de reproducir este estudio a campo, con el propósito de poder integrarlo como una herramienta más en el control de nemátodos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los nemátodos gastrointestinales parásitos de los rumiantes pertenecen a diversas familias y géneros, destacando las siguientes:

- *Trichostrongilidae*:
 - Haemonchus spp.* (abomaso).
 - Ostertagia spp.* (abomaso).
 - Trichostrongylus axei* (abomaso), *T. colubriformis* (intestino delgado).
 - Cooperia spp.* (intestino delgado).
 - Nematodirus spp.* (intestino delgado).
- *Strongilidae*: -*Oesophagostomun spp.* (intestino grueso).

Generalmente las infecciones son mixtas, participando dos o más géneros y varias especies, lo que explica la denominación general de "gastroenteritis parasitaria", aunque son más frecuentes los trichostrongilídeos (Meana y Rojo, 1999).

Ciclo Biológico

Los nemátodos hembras adultas ponen sus huevos los cuales son liberados en las pasturas a través de las materias fecales de los ovinos infectados. Una vez en las pasturas, los huevos eclosionan y se desarrollan al estadio larvario a través de dos etapas (L1 y L2). Durante este período las larvas están en estadio libre alimentándose de bacterias y otros microorganismos (Lapage, 1971).

El tercer estadio infestante (L3), retiene la cutícula del segundo estadio. Esta L3 no se alimenta y depende de sus reservas almacenadas. Esta fase de vida libre es común en líneas generales, para todos los géneros parasitarios, con alguna excepción como *Nematodirus spp.*, que alcanza el estadio de L3 en el interior del huevo (Fiel y Steffan, 1994).

Cuando la larva infestante es ingerida por un hospedador adecuado, pierde la cutícula del segundo estadio y comienza a desarrollarse a adulto dentro del aparato digestivo del hospedador (Lapage, 1971). Dependiendo de la localización del parásito, los estromgilídeos gastrointestinales que habitan en el abomaso se desenvainan en el rumen (Colin, 1998), los de intestino delgado se desenvainan en el abomaso, mientras que aquellos que se localizan en el intestino grueso pierden su vaina en el intestino delgado (Joachim y col., 2005).

La mayoría de las especies de nemátodos tardan 3 semanas en desarrollarse en adultos y comenzar la postura de huevos. Las larvas infestantes ingeridas por un animal durante un período de condiciones climáticas adversas, pueden quedar temporalmente en estado de refugio en la mucosa del cuajo o intestino (hipobiosis) (Lapage, 1971).

Epidemiología

Uruguay se encuentra en una zona templada (30° – 35° latitud sur) y por ser un país de pequeña superficie (176.215 Km²) no montañoso, hace que se pueda esperar una distribución similar de géneros y especies en todo el territorio (Mederos, 2002).

Se sabe que las especies de nemátodos gastrointestinales que se desarrollan en ovinos son principalmente *Haemonchus contortus* (43%), *Trichostrongylus colubriformis* (26%), *Trichostrongylus axei* (12%), *Nematodirus spp.* (11%) y *Ostertagia spp.* y otros (8%) (Nari y col., 1987).

Los modelos epidemiológicos descritos en el Uruguay por Nari y col. de los años 1974-1976 muestran que *Haemonchus contortus* adulto estuvo presente en los distintos meses del año y que puede permanecer en estado hipobiótico desde el mes de mayo hasta setiembre. Condiciones meteorológicas no predecibles pueden determinar, en pleno invierno, un aumento masivo de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en las pasturas.

Por otra parte, *Trichostrongylus spp.* es un parásito que predomina en invierno pero se mantiene durante todo el verano en las pasturas en especial *Trichostrongylus colubriformis*.

Ostertagia circumcincta a pesar de estar disponible en las pasturas todo el año no representa un parásito de mayor importancia. Los géneros *Cooperia spp.*, *Nematodirus spp.*, *Oesophagostomun spp.*, y *Trichuris spp.* han tenido una distribución estacional en el tiempo tendiendo por momentos a desaparecer (Nari y col., 1977).

El ciclo epidemiológico de los nemátodos gastrointestinales está regido por dos factores fundamentales, la contaminación de la pastura y la traslación de éstos hacia la majada. La contaminación significa un aumento en la puesta de huevos de nemátodos en un potrero determinado, representando un peligro potencial, al cual hay que considerar cuando se manejan categorías de ovinos susceptibles. La tasa de contaminación está regulada por el potencial biótico de los nemátodos predominantes, por la dotación de una categoría determinada, por el estado inmunitario del hospedero y, eventualmente, por la hipobiosis. La traslación está referida principalmente a factores que afectan el desarrollo, diseminación y disponibilidad de larvas en las pasturas (Armour, 1980).

En la fase externa del ciclo los factores climáticos juegan un rol muy importante, condicionando el desarrollo del estadio de vida libre en forma diferente para cada especie. La temperatura y la humedad influyen en la supervivencia y velocidad del desarrollo de huevo a L3, variando de 8 a más de 60 días. Un desarrollo rápido y altas tasas de supervivencia, ocurren durante períodos de climas cálidos (más de 10° C) y húmedos. El frío, calor extremo y seco bajan la tasa de supervivencia de las larvas (Mederos, 2002).

La materia fecal es la principal protección de las formas de vida libre, ofreciéndoles las condiciones de humedad y temperatura para su desarrollo inicial y su posterior supervivencia. Las excretas de los lanares en forma de grano ofrecen en comparación con las de los bovinos, poca protección a los estadios de vida libre (Suárez, 2007b). Las larvas infestantes pueden desplazarse vertical u horizontalmente, siendo la lluvia el principal factor de dispersión de las mismas desde la materia fecal a la pastura. De este modo las larvas infestantes se presentan accesibles al ovino que pasta (Stromberg, 1997).

Patogenia

Las parasitosis gastrointestinales están ligadas a una serie de signos clínicos como pérdida o menor ganancia de peso, inapetencia, pobre condición corporal y frecuentemente diarrea (Suárez, 2007a).

Una característica común de las infestaciones parasitarias es la disminución del consumo por parte de los hospederos (Symons, 1985). El grado de inapetencia voluntaria es variable y está relacionado con las especies de nemátodos involucrados, con el nivel, frecuencia y duración de la infestación, con la composición de la dieta y el grado de inmunidad de los hospederos. Por lo general la anorexia es un fenómeno temporáneo que sigue el curso de las parasitosis. La ocurrencia de diarrea es de presentación rara en las infestaciones con *Haemonchus contortus* y con *Trichostrongylus vitrinus*. Así mismo, hay cambios característicos en la composición de la sangre como hipoalbuminemia con disminución en la concentración de proteínas totales (que cuando son severas presentan edema submandibular) y anemia (Suárez, 2007a).

La anemia es un signo característico de las infecciones por especies hematófagas, como *Haemonchus contortus*, aunque puede observarse anemia en animales que padecen un cuadro crónico causado por especies no hematófagas (Meana y Rojo, 1999). En este último caso, la anemia puede deberse a hemorragias intestinales producidas por la cápsula bucal de un gran número de nemátodos o por disturbios hematopoyéticos iniciados por la inapetencia y la pérdida de metabolitos en la luz del aparato gastrointestinal (Nari y Cardozo, 1987).

Además de la influencia de las parasitosis crónicas en la ganancia de peso, éstas producen cambios en la composición corporal de gran importancia productiva porque alteran la calidad de la res o la posterior performance de los animales como reproductores (Fernández y col., 2000) o productores de leche y lana (Suárez, 2007a).

Las alteraciones digestivas hacen que el organismo disponga de cantidades reducidas de proteínas, utilizándolas para funciones primarias en detrimento de otras (Meana y Rojo, 1999). En las categorías más jóvenes de ovinos, puede existir una severa reducción del depósito de calcio y fósforo en los huesos, afectando el buen desarrollo del esqueleto (Nari y Cardozo, 1987).

Control químico

El control químico a base de drogas antihelmínticas es la medida más difundida. En Uruguay es muy difícil imaginar estrategias de control que no se basen en la utilización de antihelmínticos. Esto se debe a que son relativamente económicos y de resultados rápidamente apreciables (Bonino, 2003).

Los fármacos antihelmínticos ejercen sus efectos sobre el parásito, a través de interferencia con los procesos de:

- a) metabolismo energético.
- b) coordinación neuromuscular.
- c) dinámica microtubular.

Los principales grupos de antihelmínticos disponibles para la utilización en ovinos son los siguientes:

- *ORGANOFOSFORADOS* (Triclorfón, Naftalofos).
- *BENZIMIDAZOLES* (Tiabendazole, Albendazole, Fenbendazole, Oxbendazole) y *PRO-BENZIMIDAZOLES* (Tiofanato, Febantel, Netobimin).
- *IMIDAZOTIAZOLES* (Levamisol, Tetramisol).
- *TETRAHIDROPIRIMIDINAS* (Morantel, Pirantel, Oxantel).
- *AVERMECTINAS* (Ivermectina, Abamectina, Doramectina) y *MILBEMICINAS* (Moxidectin).

Organofosforados

Los antiparasitarios organofosforados con efecto antihelmíntico son fundamentalmente nematicidas. La gran mayoría de los organofosforados se desarrollaron inicialmente como pesticidas agrícolas o como ectoparasiticidas para el ganado y las mascotas. El efecto antihelmíntico de algunos de ellos se descubrió más tarde.

Los organofosforados tienen un espectro de acción antihelmíntico relativamente estrecho, pues son eficaces contra nemátodos abomasales y pequeños gusanos intestinales, pero no lo son contra gusanos que infectan otros órganos. En la mayoría de los países los organofosforados como antihelmínticos han sido sustituidos por otros productos más eficaces.

Los escasos productos organofosforados aún comercializados suelen estar formulados en forma de suspensiones para administración oral.

- **Mecanismo de acción:**

Todos los organofosforados son inhibidores de la acetilcolinesterasa, un transmisor neuromuscular presente en las células nerviosas de muchos animales, incluidos los mamíferos. Los gusanos afectados mueren o quedan paralizados y se expulsan fuera del hospedador. Sin embargo, la conjugación de los organofosforados a la acetilcolinesterasa varía para cada compuesto y especie de helminto, lo que explica las diferencias de eficacia y espectro de acción.

El enlace de los organofosforados a la acetilcolinesterasa de los helmintos es más fuerte que a la acetilcolinesterasa de los mamíferos, lo que permite su empleo en el ganado, pero con índices de seguridad menores que para la mayoría de los demás antihelmínticos de amplio espectro, lo que exige una estricta dosificación. La tolerancia del ganado puede ser insuficiente en animales debilitados, enfermos o jóvenes, por lo que su uso en estos animales está contraindicado.

La mayoría de los organofosforados requieren un tiempo de espera de al menos 7 días entre la administración y el sacrificio para consumo humano (Junquera, 2010a).

Benzimidazoles y Pro- Benzimidazoles

Son drogas mundialmente utilizadas, alcanzaron gran difusión al ofrecer ventajas importantes sobre otras drogas disponibles anteriormente, en términos de espectro, eficacia contra estadios larvarios inmaduros, margen de seguridad para el animal tratado y bajo costo (Campbell, 1990).

- Mecanismo de acción:

Actúan provocando alteración en la estructura microtubular, se unen a la proteína tubulina del nemátodo, favoreciendo la despolimerización y alterando la estructura de los microtubulos; éstos están involucrados en diversos procesos vitales para la función celular, tales como el transporte de nutrientes, división celular mitótica, estructura celular. Esa selectiva unión a la proteína tubulina del parásito desencadena una disrupción del equilibrio dinámico tubulina-microtubulos, lo cual altera el funcionamiento celular (Lacey, 1990).

También de manera secundaria podrían modificar la actividad de enzimas como fumarato-reductasa y provocar interferencia con el metabolismo energético en el transporte de glucosa hacia el citosol del parásito (Lanusse, 1994).

Los antihelmínticos Benzimidazoles (BZD) son muy poco hidrosolubles y variaciones menores en solubilidad, pueden tener un significativo impacto en la absorción gastrointestinal y la eficacia clínica resultante. La falta de solubilidad en agua es una de las limitantes más importantes en la formulación farmacéutica de los BZD, lo cual sólo permite su preparación en forma de suspensiones, pastas o gránulos para la administración oral o intraruminal. Con respecto a la distribución gastrointestinal (GI), la tasa de absorción, metabolismo y excreción de compuestos BZD varía entre las diferentes drogas del grupo; lenta y sostenida absorción gastrointestinal y prolongado reciclaje entre plasma y tracto digestivo, son factores relevantes para optimizar la eficacia antihelmíntica de los BZD (Lanusse, 1994).

Los parásitos localizados en la mucosa abomasal o intestinal están más expuestos a la droga que es reciclada entre plasma y tracto GI, que a la droga no-absorbida que pasa por el lumen de dichos órganos mezclada con el contenido digestivo, en dirección hacia el tracto GI posterior. Además la molécula BZD que llega al tubo digestivo desde el plasma, es más importante que la droga pasando por el lumen sin absorción, aún en efectividad sobre nemátodos GI.

Albendazole, Fenbendazole y Oxfendazole son lipofílicos y permanecen por más tiempo en la circulación sistémica. Por consecuencia estas drogas tienen un mayor tiempo para intercambio (reciclaje) entre plasma y tracto GI, lo cual es muy importante para alcanzar concentraciones adecuadas en el tracto digestivo y prolongar la exposición de parásitos localizados en el mismo, a niveles de droga que les son tóxicos.

Los compuestos BZD y sus metabolitos son intercambiados reversiblemente entre plasma y tracto digestivo, lo cual favorece la llegada de droga activa a parásitos localizados en la mucosa o lumen GI. Este mecanismo tiende a concentrar los metabolitos por ejemplo Albendazol sulfóxido en el tracto GI, lo cual es particularmente importante en el caso del abomaso, donde un pH más ácido que el de los fluidos ruminal o intestinal, favorece un fenómeno de secuestro de droga muy importante (Lanusse, 1994).

Imidazotiazoles: Levamisol

Levamisol es un polvo cristalino, soluble en agua, que puede ser formulado para su administración oral, intraruminal, parenteral, pour-on, en forma de bolo de liberación prolongada o como aditivo en la ración. La mayoría de las formulaciones contienen Levamisol como una sal de clorhidrato, excepto para los preparados inyectables que son formulados como sales de fosfato. Es un compuesto antihelmíntico con un buen espectro de actividad sobre estadios maduros de la mayoría de los nemátodos GI de los rumiantes, siendo altamente efectivo sobre adultos y estadios larvarios de parásitos bronco-pulmonares (Lanusse, 1994).

- Mecanismo de acción:

El Levamisol produce parálisis del parásito debido a una contracción muscular permanente (parálisis espástica). No mata al parásito y este es expulsado vivo. Este efecto paralizante lo logra por tener acción colinérgica en los ganglios del parásito susceptible. Se cree también que tiene una débil acción inhibitoria de la acetilcolinesterasa que reforzaría su acción (Sánchez y col., 2002).

La absorción de Levamisol por parte del helminto es principalmente transcuticular. Para fármacos como Levamisol que afecta la coordinación neuromuscular del parásito en forma rápida, el pico de concentración plasmática alcanzado puede ser más importante para el efecto antihelmíntico, que el tiempo de duración del fármaco activo en el organismo del animal hospedador.

La biodisponibilidad plasmática es significativamente menor tras su administración oral (42%) o intraruminal (45%) comparado con la administración por vía subcutánea. Aunque puede existir absorción a través del epitelio ruminal, el principal sitio de absorción de Levamisol es el tracto GI posterior. La presencia del grupo "tiazol" le confiere una actividad inmunomoduladora a algunos metabolitos del Levamisol. El efecto del Levamisol sobre el sistema inmune parece ser dosis y tiempo dependiente. Es un fármaco con margen de seguridad estrecho (Lanusse, 1994).

Avermectinas y Milbemicinas

Los fármacos endectocidas incluyen una serie de sustancias naturales y/o semisintéticas, son antiparasitarios de amplio espectro, efectivos contra nemátodos y artrópodos. Los mismos no poseen actividad tenicida ni trematodocida.

La familia de las Avermectinas (AVM) se origina de la fermentación del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. Son sustancias altamente lipofílicas, que poseen un elevado peso molecular. Son solubles en solventes orgánicos como cloroformo, acetona, ciclohexano, dimetilformamida y dimetilsulfóxido; con muy baja solubilidad en agua.

Las Milbemicinas como el Moxidectin se obtienen a partir de modificaciones químicas de Nematodectin, que es un producto natural de la fermentación del *Streptomyces cyaneogriseus*.

Moxidectin posee menor peso molecular y mayor solubilidad en agua que Abamectina e Ivermectina (IVM).

Estas diferencias fisicoquímicas menores entre las diferentes moléculas de los fármacos endectocidas, pueden jugar un rol muy importante en la flexibilidad para la formulación de los mismos, en el comportamiento farmacocinético, en los mecanismos de absorción de las drogas por parte de los distintos parásitos y, en el potencial desarrollo de resistencia (Lanusse, 1994).

- **Mecanismo de acción:**

Los fármacos endectocidas producen su efecto antiparasitario al incrementar la permeabilidad de la membrana celular para los iones cloro, con la resultante hiperpolarización y parálisis flácida de la musculatura faríngea y somática de los parásitos. Dependiendo de las concentraciones a las que se exponen los parásitos, la entrada de cloro podría o no estar mediada por un mecanismo gabaérgico (Lifschitz y col., 2002).

Indudablemente, Ivermectina es la droga que mejor se ha caracterizado. Posee una elevada eficacia sobre estadios adultos y larvarios de nemátodos GI y pulmonares como así también, sobre parásitos externos de diferentes especies animales.

El comportamiento farmacocinético de esta droga difiere de acuerdo a la formulación, la vía de administración utilizada y la especie animal (Lanusse, 1994).

Cabe mencionar que actualmente se han desarrollado pocos antihelmínticos ya que rápidamente puede aparecer resistencia antihelmíntica. Algunas empresas farmacéuticas argumentan que no se justifican los gastos de investigación sobre el posible mercado que puedan tener los nuevos productos.

La excepción es *Monepantel* que ya está disponible en Nueva Zelanda, Reino Unido y Uruguay, si bien es de prever que se introducirá en otros países.

El Monepantel es un nuevo antiparasitario interno, el primer representante de los derivados amino-acetonitrílicos (AAD), la última clase química de antihelmínticos descubierta. El primer producto comercial (Zolvix®, Novartis) ha sido recientemente introducido (2009).

El Monepantel ha sido investigado en ovinos contra los principales géneros de gusanos nemátodos gastrointestinales (*Cooperia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Oesophagostomum*, *Teladorsagia*=*Ostertagia*, *Trichostrongylus*) y ha resultado completamente eficaz, tanto contra adultos como contra los estadios inmaduros, incluidas cepas resistentes a los Benzimidazoles, Imidazotiazoles (Levamisol) y Lactonas macrocíclicas, las clases químicas nematocidas principales (Bustamante y col., 2009).

- Mecanismo de acción:

El Monepantel interfiere con los receptores MPTL-1 del sistema nervioso de los helmintos, necesarios para coordinar sus movimientos. Se trata de un mecanismo de acción nuevo, diferente a los de los demás antihelmínticos, lo que explica que el Monepantel no presente resistencia cruzada con ellos. Los gusanos afectados sufren una hipercontracción de los músculos de la pared corporal, seguida de parálisis y muerte.

Luego de la aplicación oral, los niveles máximos en sangre se alcanzan ya 24 horas tras la administración y seguidamente disminuyen lentamente al mismo tiempo que aparece en tejidos periféricos, sobre todo en grasa (Kaminsky y col., 2008).

Resistencia antihelmíntica

La resistencia antihelmíntica ha determinado un nuevo escenario en el control de nemátodos gastrointestinales del ovino, donde los antihelmínticos deberán ser utilizados con criterio (Castells, 2002). Comienza a cobrar importancia el uso estratégico de los antihelmínticos, basado en conocimientos epidemiológicos, diagnóstico de laboratorio y elección de la droga o combinación de estas (Castells, 2005).

Se entiende por resistencia antihelmíntica a la habilidad de una población de nemátodos para resistir dosis de antihelmínticos significativamente mayores a las necesarias para matar a una población normal (Bonino, 2003).

El principal mecanismo que los helmintos usan para adquirir resistencia a las drogas parece ser a través de la pérdida o disminución de la afinidad de los receptores para la droga (Nari, 2003).

El fenómeno de resistencia frente a múltiples drogas viene siendo un hallazgo común en casi todo el mundo hasta el punto que se reportan casos donde han fallado casi todas las drogas de uso comercial (Suárez, 2007b).

La WAAVP (Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria) ha estandarizado las pruebas para detectar la resistencia antihelmíntica de nemátodos. Una de ellas es la prueba *in vivo* de reducción del contaje de huevos en la materia fecal (TRCH), que determina la eficacia antihelmíntica comparando la eliminación de los huevos antes y después de un tratamiento (Coles y col., 1992).

En nuestro país los primeros diagnósticos de resistencia antihelmíntica fueron realizados en el año 1989, en establecimientos de la zona noroeste del país. En un estudio realizado en 1996 se observó que el 86.1 % de los predios tenía cierto grado de resistencia a los Benzimidazoles, 71% a Levamisoles y 1.2% a Ivermectina (Nari y col., 1996). A partir de ese momento nuevos casos son diagnosticados, lo cual determina que se advierta sobre la problemática del control de la parasitosis gastrointestinales en ovinos (Bonino, 2003).

En la mayoría de los casos de resistencia que se han descrito, se aprecia que el fenómeno se ha desarrollado casi exclusivamente en aquellos establecimientos donde los tratamientos antiparasitarios se han efectuado en gran cantidad y de manera empírica e irracional, o también por la introducción de animales portadores de parásitos resistentes y provenientes de establecimientos con el problema instalado (Steffan y col., 2005).

Sólo parece haber acuerdo en que la resistencia antihelmíntica es un hecho inevitable que deviene tarde o temprano por el uso de los antiparasitarios, y que una vez instalada su reversión es poco probable (Suárez, 2007b).

Es por esta razón que actualmente se habla de Control integrado de parásitos (CIP), apuntando a una disminución en la frecuencia del uso de drogas y a la integración de otras medidas de control tales como selección de animales resistentes, desarrollo de vacunas, manejo de la alimentación (taninos), manejo de pastoreo, desparasitación selectiva, agujas de cobre, plantas antihelmínticas y control por organismos vivos (hongos nematófagos).

Control no químico

Animales resistentes

El término resistencia a nemátodos ha sido definido como la habilidad de un hospedador para iniciar y mantener una respuesta que evite o reduzca el establecimiento de los parásitos o bien, elimine la carga parasitaria. Los animales resistentes no son completamente refractarios a la enfermedad, sólo albergan menos parásitos que los animales susceptibles y por lo tanto eliminan menos huevos en las heces. Otro factor a considerar es la resiliencia, que puede definirse como la capacidad que tiene un hospedador de mantener casi el mismo nivel de producción ante un desafío parasitario (Cuéllar, 2007). Por su parte la Tolerancia, es la habilidad de mantener niveles productivos aceptables, pero sin la intervención del sistema inmunitario (Nari, 2003).

Los mecanismos íntimos de la expresión del fenómeno de la resistencia aún se encuentran en estudio. Sin embargo, tiene fundamentalmente una base inmunológica, donde tanto la inmunidad celular como la humoral, cumplen un rol determinante. Se conoce que los animales resistentes disminuyen el establecimiento de L3 a L4, reducen el pasaje de L4 a adultos; una vez establecidos los adultos, el animal resistente se encarga de eliminar gran parte de ellos y por último, se ha visto que el nivel de postura de las hembras disminuye.

El objetivo de la selección por resistencia genética es, la eliminación de los animales más parasitados de una población, lográndose un efecto epidemiológico adicional (Castells, 2005).

Los métodos para determinar la resistencia genética de los ovinos se pueden basar en la evaluación de la expresión fenotípica de la característica (recuento de parásitos adultos, recuento de huevos por gramo en materia fecal, cuantificación de la respuesta inmunitaria a través del recuento de eosinófilos en sangre) o mediante estudios de ADN a través de las técnicas de genética molecular. Como medida de resiliencia se han utilizado el hematocrito y el score de diarrea (Dag score) (Castells, 2005).

En el caso de nemátodos, el recuento de huevos por gramo (Hpg) sigue considerándose como la expresión fenotípica más práctica y con la confiabilidad suficiente (Nari, 2003).

Cuéllar en el año 2007, consideró que la ventaja de los animales resistentes es que en ellos se da un aumento en su producción y una reducción en la utilización de antihelmínticos, sin embargo, una desventaja es que requiere de un lento proceso de selección.

Uruguay es el país con mayor experiencia en Latinoamérica en programas de selección de ovinos resistentes. A partir de 1998 se crea en el "Centro de Investigación y Experimentación Dr. Alejandro Gallinal" del Secretariado Uruguayo de la Lana, un núcleo de ovinos resistentes a los nemátodos gastrointestinales. Además en el 2003 se creó una línea divergente (susceptible) a los efectos de mejorar la posibilidad de los estudios de genética molecular (Castells, 2005).

Vacunas

La producción de vacunas para estimular el sistema inmunitario frente a infecciones por nemátodos gastrointestinales es un método de control potencial desde el momento que se conoce con claridad la participación del sistema inmunitario frente a los nemátodos gastrointestinales (Castells, 2005).

Cuando se consideran aspectos prácticos, se hace evidente la necesidad de desarrollar una vacuna contra nemátodos gastrointestinales en general (vacunas multivalentes), y no vacunas individuales para cada género parasitario (Lützelshwab, 2007).

Las vacunas experimentales contra los nemátodos gastrointestinales han sido divididas en dos clases:

-Los antígenos ocultos o encubiertos: Derivan generalmente del intestino del parásito y no están expuestos al sistema inmune durante la infección natural. Son muy eficaces contra los nemátodos que se alimentan de sangre, tal como *Haemonchus contortus*. Esto se debe a que los antígenos al ser inyectados estimulan la producción de anticuerpos que circulan por la sangre y al ser ingeridos por los parásitos hematófagos, se adhieren al intestino y bloquean los procesos digestivos, debilitándolos y disminuyendo su reproducción y viabilidad. Sin embargo su eficacia es casi nula en aquellos nemátodos que tienen diferentes hábitos alimenticios (Newton y Meeusen, 2003).

De los antígenos ocultos el más eficiente hasta el momento es el H11, una proteína integral de membrana, presente en la microvellosidades de las células intestinales de las formas parasíticas de *Haemonchus contortus*. Esta proteína es capaz de promover más de un 90 % de protección en corderos y hembras preñadas, además de ser efectiva contra cepas de *Haemonchus contortus* resistentes a antiparasitarios (Newton y Munn, 1999). La protección conferida persiste por alrededor de 23 semanas y es transferida a las crías a través del calostro (Dalton y Mulcahy, 2001).

-Los antígenos naturales o convencionales reconocidos durante la infección pueden ser productos de excreción y secreción, o liberados durante las mudas larvales, componentes de la cutícula, etc. Son muy accesibles para el sistema inmunitario del animal pero no siempre afectan la viabilidad del nemátodo pudiendo resistir al ataque inmunitario.

Si bien es posible generar gradualmente inmunidad contra parásitos gastrointestinales mediante la exposición natural o experimental, hasta el momento no ha sido exitoso el desarrollo de vacunas comerciales contra la mayoría de los géneros de nemátodos gastrointestinales (Lützelshwab, 2007).

Taninos

(FACU)

En la naturaleza y dentro de los forrajes utilizados en los sistemas de producción de diferentes regiones del mundo, existen macromoléculas complejas capaces de interferir en los procesos digestivos afectando el consumo, el crecimiento y hasta el valor nutritivo de los mismos. Estas moléculas son conocidas genéricamente con el nombre de Taninos. Los Taninos son compuestos fenólicos derivados del metabolismo secundario de determinadas plantas (Otero e Hidalgo, 2004).

Existen dos tipos: Condensados e Hidrolizables. Estos últimos son rápidamente degradados en grupos fenólicos más pequeños, incapaces de reaccionar con las proteínas del medio (Min y Hart, 2003).

Líneas de trabajo recientes están explorando las propiedades antihelmínticas y/o estimulantes de la inmunidad de los Taninos Condensados. Para ello, se han probado distintas especies forrajeras como el Lotus (*Lotus corniculatus* y *Lotus pedunculatus*), sulla (*Hedysarum coronarium*), llantén (*Plantago lanceolata*), raigrass perenne (*Lolium perenne*), alfalfa (*Medicago sativa*). Estas especies contienen diferentes concentraciones de Taninos en su composición, observándose en alguna de ellas efecto antihelmíntico como es el caso del *Lotus pedunculatus* y de *Lotus corniculatus* (Niezen y col., 1995).

Su acción en la disminución de los parásitos gastrointestinales tendría dos fundamentos:

-Indirecto: Los Taninos afectan el metabolismo proteico, interactuando selectivamente con las proteínas provenientes de la ingesta formando complejos y precipitándolas, aumentando así su pasaje hacia el intestino delgado donde son absorbidas. En un rango de pH entre 5 y 7,5 en el rumen, la proteína permanece unida a los Taninos, pero a pH bajos (pH < 3,5) la proteína es liberada. Esto se traduce en un aumento en el desempeño productivo y una mejora de respuesta inmune específica para los parásitos intestinales.

Se ha demostrado que los animales alimentados con altos planos nutricionales están en mejores condiciones para resistir la infección y la enfermedad, mientras que es más grave en los animales con una ingesta baja en proteínas (Barry y Manley, 1984; Min y Hart, 2003).

-Directo: La presencia de Taninos en coprocultivos demostró disminuir el número de larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales comparado a un grupo control sin Taninos (Niezen y col., 1998).

En Uruguay, Mederos y col. en el año 2002, comunican menores niveles de recuentos de huevos por gramo en animales pastoreando pasturas con ciertos niveles de Taninos Condensados.

Manejo de pasturas

El manejo de pastoreo consiste en diseñar estrategias que disminuyan la posibilidad de contacto entre las formas infectantes del parásito que se encuentran en refugio dentro de las pasturas y el hospedero (Salles, 2002). Sin embargo no existen suficientes conocimientos ecológicos y epidemiológicos, como para definir estrategias de pastoreo, que a través de la permanencia o descanso de las parcelas se puedan obtener pasturas seguras (Castells, 2002).

Antes de comenzar a describir los distintos métodos que se disponen para lograr pasturas poco infestadas, es necesario definir el alcance que se dará a los términos pasturas libres, limpia, segura y sucia:

- Pastura libre: No tiene contaminación ni larvas disponibles. En nuestras condiciones de manejo, esta situación es altamente improbable que se produzca.
- Pastura limpia: Tiene una contaminación e infestación mínima que no afecta a ovinos previamente dosificados que se introduzcan.
- Pastura segura: La contaminación e infestación no son suficientes para producir pérdidas de producción en ovinos, aunque ellos pueden ser una fuente progresiva de contaminación del potrero.
- Pastura sucia: Existe una importante contaminación e infestación. Ovinos previamente dosificados e introducidos en el potrero, restablecerán en pocos días su población de parásitos. Ésta es la situación más común en establecimientos del Uruguay (Nari y Cardozo, 1987).

Al ser la pradera el medio externo natural para el desarrollo y supervivencia de las larvas de nemátodos gastrointestinales, es posible su manipulación a efecto de reducir el riesgo de infección. Esto puede ser realizado por medio de:

Descanso de pasturas

Con esta estrategia se pueden obtener pasturas seguras o eventualmente limpias de nemátodos. Tradicionalmente se ha considerado que el mantener un potrero por 3-4 meses sin rumiantes permite la destrucción de gran cantidad de L3 por la acción de agentes climáticos (principalmente desecación y acción de rayos solares). El descanso de pasturas no es igualmente eficaz en los distintos tipos de suelos, topografías y estaciones del año. Si bien el descanso de pasturas ejemplifica muchos de los aspectos del control parasitario, no tiene mayor aplicabilidad en establecimientos poco subdivididos y de cría netamente extensiva (Nari y Cardozo, 1987).

Pastoreo alterno

Este tipo de pastoreo puede ser utilizado para obtener pasturas seguras, alternando diferentes especies de rumiantes o distintas categorías dentro de una misma especie. Su ventaja principal sobre el descanso de pasturas, es que el potrero puede seguir siendo utilizado con animales (Nari y Cardozo, 1987).

Trabajos realizados por Mederos y col. en el año 2002 mostraron que los corderos que pastorearon en parcelas donde hubo pastoreo previo con bovinos tuvieron menores recuentos de huevos por gramo que en aquellas pastoreadas previamente con capones.

Al introducir primero al pastoreo a los bovinos, éstos al ser menos susceptibles a los nemátodos gastrointestinales, permiten el desarrollo de sólo algunos nemátodos gastrointestinales en su interior y, desde luego, la excreción de huevos disminuye. A este mecanismo se le ha denominado efecto aspiradora (Cuéllar, 2007).

Como esto implica, una priorización del manejo parasitario por sobre el manejo nutritivo se debe orientar a momentos muy puntuales y estratégicos como son el cordero al destete o la parición de la majada de cría (Castells, 2007).

Pastoreo por Dilución

Este tipo de manejo mixto es el manejo tradicional que desde siempre ha utilizado el productor. El pastoreo mixto se basa en los mismos principios del pastoreo alterno, aunque sus efectos en general son menos evidentes (Nari y Cardozo, 1987).

Además del mejor aprovechamiento del recurso forrajero, favorece una disminución de la contaminación con larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales en la pradera reduciendo el riesgo de adquisición de estos parásitos por parte de los ovinos (Cuéllar, 2007).

Pastoreo rotativo

El manejo basado en el movimiento periódico y secuencial de los animales entre un número variable de potreros es una alternativa destinada a mejorar la utilización de las pasturas y aumentar la producción por hectárea (Salles, 2002).

El sistema de pastoreo rotativo puede favorecer el control parasitario por 2 mecanismos, el tiempo de permanencia o el tiempo de descanso.

Por un lado tiempos de permanencia cortos (menos de 7 días), determinan que la contaminación de los propios animales no tenga tiempo de reinfestarlos, ya que cuando las larvas están disponibles los animales ya abandonaron el potrero. Estos sistemas tienen más éxito en climas tropicales donde se produce una mortandad importante de L3 hacia la cuarta a sexta semana luego de la contaminación.

No obstante en climas templados, donde los ciclos son más lentos, parece ser más importante el tiempo de descanso. Así en Uruguay, sistemas de pastoreo con 28 días de permanencia y 90 a 120 días de descanso han mostrado resultados satisfactorios.

Sin embargo cuando las condiciones epidemiológicas son muy favorables a los parásitos, los 28 días pueden ser suficientes para cerrar el ciclo antes de que los animales abandonen la parcela, es por ello que los resultados a veces son contradictorios. En definitiva la variación climática parece influir más fuerte que el sistema de pastoreo en si mismo y es esta misma variación climática la que impide elaborar propuestas generales y efectivas (Castells, 2007).

Desparasitación selectiva (sistema FAMACHA)

En Sudáfrica se diseñó una estrategia de control parasitario (FAMACHA®) la cual se basa en el tratamiento selectivo de los animales en función de la coloración de la mucosa conjuntival, relacionada con diferentes grados de anemia. Esta estrategia sólo funciona frente a infestaciones donde esté presente *H. contortus* por ser un nemátodo hematófago por excelencia, que ocasiona anemia severa en los animales. Esto se logra a partir de una escala de cinco puntos (carta de FAMACHA®) en la cual el valor mínimo (1) se corresponde con la mucosa ocular de rojo intenso y el máximo (5) con un color pálido (Arece y col., 2007).

Arece y col. en el año 2007 comparando las variables hematocrito y coloración de mucosas (carta Famacha) obtuvieron una correlación negativa ($r=-0.38$; $p<0,01$), mientras que se apreció una relación positiva, no significativa, entre el color de mucosas oculares y el recuento de huevos fecales ($r=0.036$).

El objetivo de este método es identificar clínicamente animales resistentes, resilientes y susceptibles a las infecciones parasitarias, optimizando el tratamiento de forma selectiva. Además sólo una mínima parte de los animales debe ser desparasitado, disminuyendo la presión de selección hacia la aparición de cepas de nemátodos gastrointestinales con resistencia antihelmíntica, lo que contribuye a incrementar la proporción de parásitos susceptibles en refugio (Cuéllar, 2007).

En Uruguay trabajos de investigación sobre la técnica de Famacha, arrojaron resultados satisfactorios en términos de racionalización en el uso de drogas, en un año de desafío medio a bajo (2000), pero cuando las condiciones fueron muy favorables a *H. contortus* (2001), la técnica no mostró una disminución tan drástica en el uso de antihelmínticos y se notaron mayores pérdidas productivas que con una estrategia tradicional. Ante ello parecería concluirse que es una alternativa, a ser usada en algunos casos puntuales, pero no en forma generalizada (Salles, 2002).

Empleo de partículas o agujas de cobre

Las agujas de óxido de Cu pueden representar una opción estratégica para el control de los nemátodos gastrointestinales ya que permite reducir las pérdidas causadas por los mismos en los ovinos, especialmente cuando se asocia a otro tipo de control (Cuéllar, 2007).

Las partículas o agujas de óxido de Cu, al ser colocadas en cápsulas de gelatina y administradas por vía oral, pasan a través del rumen y se alojan en los pliegues del abomaso donde liberan los iones de Cu, los cuales tiene efecto antiparasitario (Judson y col., 1982; Cuéllar, 2007).

En una evaluación en ovinos infectados artificialmente con *Trichostrongylus colubriformis*, *T. circumcincta* y *H. contortus*, se les administró 5g de pequeños alambres de óxido de Cu. Se observó una reducción en la población adulta del 96% para *H. contortus* y 56% para *T. circumcincta* pero sin reducción para *T. colubriformis* (Bang y col., 1990). Lo anterior indica que esta estrategia sólo es de utilidad contra *H. contortus*.

Finalmente, es necesario determinar el efecto de las dosis repetidas de agujas de Cu sobre el estado de salud de los ovinos para prevenir intoxicaciones debido a que esta especie es muy susceptible a la intoxicación crónica por Cu (Cuéllar, 2007).

Uso de plantas con actividad antihelmíntica

Aunque hasta hace poco la mayoría de las pruebas de la actividad antiparasitaria de plantas medicinales fue anecdótica y carecía de validez científica, en la actualidad existe un creciente número de estudios experimentales controlados que tienen por objeto verificar y cuantificar la actividad de dichas plantas. De hecho, existen un gran número de plantas cuya actividad antihelmíntica se ha demostrado por ejemplo, las semillas de ajo, la cebolla y la menta se han utilizado para tratar a los animales que sufren de parasitismo gastrointestinal (Athanasiadou y col., 2007).

La mayoría de los estudios *in vitro* se han hecho con extractos acuosos (infusiones), alcohólicos o etéreos de alguna parte de las plantas (hojas, bulbos, semillas, etc.), que es de donde suelen aislarse los constituyentes químicos identificados.

Los escasos estudios *in vivo*, se han hecho mayormente incluyendo la materia bruta de la planta (hojas, frutos, semillas, etc.) más o menos elaborada (triturada, molida, secada, etc.) en la dieta de los animales tratados (Junquera, 2010b).

Informes de todo el mundo incluyen una lista exhaustiva de plantas que han demostrado tener propiedades medicinales (Nari, 2003).

Algunas de las plantas medicinales más importantes son:

-**Ajo** (*Allium sativum*). Principios activos la allicina, alinina, alina y otros, con acción vermífuga comprobada.

-**Ajenjo mayor** (*Artemisia absinthium*). Sustancia activa la absintina, tiene un efecto nematocida potente.

-**Abrotano Macho** (*Artemisia abrotanum*). Componentes absintol, taninos, tuyona, y flavonoides. Tóxico.

-**Helecho Macho** (*Filix max*). Compuesto de filicina, aspidol y vit. B, etc., es tenífugo también. Tóxico en gestación.

-**Tomillo** (*Tymus vulgaris*). Contiene timol. Vermífugo.

-**Nogal** (*Juglans regia*). Tiene juglona y vit. B, ácido gálico, antihelmíntico.

-**Tanaceto** (*Tanacetum vulgare*). Sustancia activa tanacetina, tuyona, taninos, alcanfor, etc., antihelmíntica. Tóxico. (García, 2006).

Control Biológico

La posibilidad de ejercer un control biológico por vía de organismos vivos, es una alternativa que ha sido estudiada por numerosos investigadores. Es así que se han estudiado bacterias, virus, hongos e insectos. De todos ellos, los hongos nematófagos han sido hasta el momento los más promisorios. Estos son habitantes naturales del suelo que pueden ser aislados de heces de animales (Saumell y Fernández, 2000).

Los hongos son denominados “nematófagos”, por tener la capacidad de producir órganos especializados para aprehender, destruir y alimentarse de los nemátodos. Constituyen un grupo muy diverso que incluye hongos predadores, endoparásitos, invasores de huevos de nemátodos y otros que producen metabolitos tóxicos para nemátodos (Navarro y col., 2009).

Actualmente el grupo de los hongos nematófagos predadores es el que ha tenido mayor relevancia en la investigación sobre opciones de control biológico de nemátodos gastrointestinales y pulmonares que afectan a los rumiantes.

Los hongos predadores se caracterizan por producir un extenso sistema de hifas, y a todo lo largo de las hifas a ciertos intervalos presentan estructuras especializadas para atrapar y sostener nemátodos vivos. Estas estructuras pueden ser perillas pegajosas, anillos no adhesivos, redes adhesivas, anillos constrictores; entre otros (Orozco y col., 2009).

Algunos ejemplos de hongos predadores investigados mundialmente son el género *Arthrobotrys* con varias especies y *Duddingtonia flagrans*, siendo este último el candidato ideal. La razón para esto es que, aparte de ser un predador altamente eficiente, *D. flagrans* produce cantidad abundante de esporos de resistencia (clamidiosporas) que soportan el pasaje a través del tracto gastrointestinal de los animales (Graminha y col., 2005; Larsen, 2006; Orozco y col., 2009).

El mecanismo se basa en la administración oral de formas esporuladas (clamidiosporas), las que al atravesar el tracto digestivo y expulsarse con la materia fecal, desarrollan las formas vegetativas (hifas y conidias) que por diferentes mecanismos (adherencias, enlaces), impiden la salida de las L3 de los nemátodos de la materia fecal a la pastura, disminuyendo de esta manera los niveles de contaminación.

Los mayores inconvenientes encontrados radican en la variabilidad de la respuesta según clima y época del año, en la producción industrial de los hongos y en la aplicación práctica en sistemas pastoriles (Castells, 2005).

Actualmente en Uruguay, un grupo de investigadores pertenecientes al DILAVE, SUL y otros privados mediante la financiación de un proyecto FPTA, están estudiando la actividad de los hongos nematófagos suministrados en bloques energéticos a ovinos en pastoreo (Comunicación personal).

Hipoclorito de Sodio

(FA)

Los Hipocloritos son los desinfectantes más utilizados de los derivados clorados y están disponibles comercialmente en forma líquida (Hipoclorito de sodio) o sólida (Hipoclorito cálcico, Dicloroisocianurato sódico). El Hipoclorito de sodio es un compuesto químico, además de un fuerte oxidante cuya fórmula es NaOCl. Es una solución clara de ligero color amarillento y olor característico.

El mecanismo de acción sobre los microorganismos es poco conocido, pero se postula que actúan inhibiendo las reacciones enzimáticas y desnaturalizando las proteínas (Sánchez y Sáenz, 2005).

El Hipoclorito de sodio también ha sido conocido como un potente desinfectante que tiene amplio espectro incluyendo bacterias vegetativas, mycobacterias, esporas bacterianas, virus, algas, protozoos y nemátodos (Howell y col., 1999).

Son extremadamente efectivos frente a todo tipo de microorganismos, pero pierden gran parte de su actividad en presencia de materia orgánica.

Las ventajas de esta solución sobre los otros desinfectantes incluyen la baja toxicidad a concentraciones de uso, la facilidad de manejo y el costo relativamente bajo (Sánchez y Sáenz, 2005).

El Hipoclorito de Sodio se descompone lentamente en contacto con el aire. La velocidad de descomposición aumenta al incrementar la concentración de la solución y a medida que aumenta la temperatura. La exposición de las soluciones de Hipoclorito de Sodio a la luz solar acelera la descomposición (Howell y col., 1999).

Cuando el Hipoclorito de sodio se disuelve en agua, se generan dos sustancias, que juegan el papel de oxidantes y desinfectantes. Estos son Ácido Hipocloroso (HOCl) y el ión de Hipoclorito el cual es menos activo (OCl⁻) (Lenntech, 2010).

El Hipoclorito de sodio se utiliza a gran escala. Por ejemplo en la agricultura, industrias químicas, pinturas, industrias de alimentación, del cristal, papeleras y farmacéuticas, etc.

Muchas investigaciones han documentado al Hipoclorito de sodio como un agente efectivo en el desenvainamiento de las larvas de nemátodos (Campbell y Gaugler, 1991; Conder y Johnson, 1996) incluso cuando fue usada a concentraciones menores o iguales al 1% (Glasser y Stoll, 1940; Kelly, 1976; Campbell y Gaugler, 1991; Titoy y Van Rensburg, 1997; Van Wyk, 1998; Amir, 2007; González y col., 2010).

Joachim y col (2005) probaron en *Oesophagostomun dentatum* que el desenvainamiento podría ser inducido mediante solución de Hipoclorito de sodio (10 a 14% cloro libre) a los 5 minutos a temperatura ambiente. La parte craneal de la vaina se desprendió del capuchón por el cual la larva activamente salió dejando atrás la vaina intacta.

A concentraciones mayores al 10%, el Hipoclorito de sodio, es un fuerte agente oxidante, rompe los enlaces de sulfuro y altera la orientación tisular de 11 géneros seleccionados de nemátodos (Howell y col., 1999).

Ante la fuerte problemática de la resistencia antihelmíntica, el uso de agentes como el Hipoclorito de sodio que permite el desenvaine de las larvas de nemátodos gastrointestinales a concentraciones bajas, abre la posibilidad de que las larvas se espongan al ambiente y se logre la reducción de las poblaciones de nemátodos gastrointestinales en los potreros, lo cual ayudará a reducir los riesgos de la parasitosis de ovinos en pastoreo (González y col., 2010).

OBJETIVOS

Objetivo general:

Estudiar la eficacia de la solución de Hipoclorito de Sodio al 1% aplicada sobre las pasturas para el control de las larvas infectantes de los nemátodos gastrointestinales de ovinos.

Objetivos específicos:

1. Comprobar si existe una reducción de la carga parasitaria de los animales situados sobre las pasturas tratadas.
2. Relacionar las variaciones de peso con respecto al nivel de infección.
3. Evaluar cualitativamente el efecto que producen diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio en la pastura.
4. Evidenciar la palatabilidad en ovinos ante la oferta de pasturas expuestas al Hipoclorito de Sodio al 1 % en tiempo decreciente.
5. Evaluar el efecto que ejerce el Hipoclorito de Sodio al 1% en la evolución de huevo a larva infectante en coprocultivos.
6. Comparar el efecto que produce el Hipoclorito de Sodio al 1% en distintos volúmenes, en diferentes largos y tipos de pasturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el período comprendido entre los meses de Marzo de 2010 y Enero de 2011 dentro de las instalaciones del Campo Experimental N° 2 de Facultad de Veterinaria, localizado en el Km. 42.5, Ruta 1 del Departamento de San José. El mismo se llevó a cabo en tres etapas.

Se trabajó con una población de 35 borregos (2 dientes) por ser una de las categorías más susceptibles a las parasitosis gastrointestinales.

En una primera etapa, se dispuso de tres bretes de campo natural con predominio de gramíneas, de los cuales dos eran de aproximadamente 100m² cada uno y el tercero de 196m².

Se obtuvieron muestras de pasto de los mismos mediante el método de Taylor (Couvillion, 1993) para determinar la contaminación de las pasturas con larvas de tercer estadio.

A nivel de laboratorio, constatamos el número y el género de larvas infectantes (L3) así como la presencia de otros integrantes de la fauna del suelo utilizando una técnica modificada de lavado de pasto (Laboratorio Central Veterinario, 1973). Para la realización de esta técnica, se colocó el pasto en una malla y se sumergió en un recipiente de 20 litros de capacidad permaneciendo allí hasta el día siguiente para permitir la sedimentación de las larvas. Luego se eliminó el sobrenadante por sifonado, dejando 1.5 litros los que se transfirieron a un recipiente más pequeño y dejando sedimentar durante 20 minutos. Este mismo procedimiento se repitió en dos oportunidades hasta obtener un volumen de 50 ml de sedimento. Para aislar las larvas se utilizó el método de Baermann, basado en la migración larvaria en un medio líquido a través de un papel filtro (Ferreya y col, 2002). Luego las mismas se contaron e identificaron.

El pasto de cada muestra se secó a temperatura ambiente para expresar el número de larvas por kilo de pasto seco (L/Kg.p.s.) a través de la siguiente fórmula:

$$\text{L/Kg.p.s.} = \frac{(1000 \times n)}{\text{gr.p.s.}}$$

Donde:

-n: número de larvas contadas.

-gr.p.s.: peso en gramos de la muestra de pasto seco.

Se formaron tres grupos, dos de 10 animales para el primer y segundo brete y uno de 15 para ajustar la carga animal a la superficie del tercer brete. Los borregos fueron pesados y dosificados 15 días antes de comenzar el ensayo con una fórmula comercial a base de Ivermectina, Levamisol y Rafoxanide (Triple Oral ® Laboratorio Rosenbusch) a razón de 1 ml cada 10 Kg. con el fin de comenzar con bajas cargas parasitarias.

Para infestar artificialmente las pasturas se obtuvieron larvas provenientes de cultivos de materia fecal de ovinos con altos recuentos de huevos de nematodos, en su mayoría *H. contortus*. Los bretes se sembraron con 300-500 L3/m². El total de larvas correspondiente a cada brete se diluyó en agua destilada hasta alcanzar un volumen de 500 ml.

La siembra fue realizada mediante aspersión siguiendo un trayecto en zig-zag de manera de poder distribuir uniformemente dicho volumen sobre la superficie total de cada brete.

De los tres bretes, los dos más pequeños fueron asperjados a razón de 0.5 litros/m² con una solución de Hipoclorito de sodio al 1% utilizando pulverizadores manuales de 5 y 15 litros de capacidad.

Para llegar a esta concentración partimos de una solución de Hipoclorito de sodio al 10% (Extrón ®, Electrón S.A.) utilizando la siguiente ecuación de dilución:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f$$

V_i : Volumen inicial.

C_i : Concentración inicial.

V_f : Volumen final.

C_f : Concentración final.

A las 24 horas se recolectaron muestras de pasto con el fin de evaluar el efecto ejercido por Hipoclorito de sodio sobre las larvas.

A las 72 horas postaspersión se introdujo en el brete no tratado al grupo control (G1) y los 2 grupos restantes (G2 y G3) en los bretes donde se utilizó el producto.

A partir de la segunda semana, tiempo suficiente para que se cumpla el período prepatente más corto (*H. contortus*) y con frecuencia semanal, se obtuvieron por vía rectal muestras individuales de materia fecal y se registraron los pesos de los animales. Las muestras se identificaron con el número de caravana correspondiente a cada animal y se transportaron en condiciones aptas para su posterior análisis.

Al llegar al Laboratorio N° 3 de Parasitología de Facultad de Veterinaria, se procesaron por medio de la técnica cuantitativa McMaster modificada. Para esta prueba se utiliza una solución saturada de Cloruro de sodio (densidad 1.20) que produce la flotación de los huevos de la mayoría de los géneros parasitarios, permitiendo así su recuento en cámaras. Se cuentan todos los huevos de helmintos Trichostrongylidos de los retículos y se multiplican por el factor de dilución, este caso 40, lo que permite expresar el resultado en huevos por gramo de materia fecal.

Se realizó para cada grupo un coprocultivo mediante la técnica de Roberts- O` Sullivan brindando las condiciones necesarias de temperatura (27° C) y de humedad (75%) para el desarrollo de huevo a L3. Luego de 8 días se recuperaron las larvas para su posterior identificación empleando las claves de Niec (1968).

Con el propósito de evaluar la dinámica poblacional en las pasturas, se tomaron muestras de pasto 2 días previos a la aspersión y en los días 1, 4, 17 y 32 luego de la misma, utilizando los mismos procedimientos descritos anteriormente.

Al cabo de 15 días de iniciado este estudio, los animales comenzaron a perder peso debido a la baja disponibilidad de alimento, por lo cual se decidió su suplementación con fardo hasta cumplirse 39 días.

En el mes de Noviembre se formaron 2 grupos de 10 animales cada uno, que fueron dosificados previamente (15 días), con la misma fórmula comercial utilizada en la primera etapa. Se subdividió un potrero de pradera mixta (Trébol blanco, Lotus spp. y Raigrass) en dos bretes obteniéndose una superficie de 1000 m² para cada grupo, los cuales se sembraron con 50 L3/m². A las 24 horas de la siembra, se asperjó en forma manual uno de ellos con 500 litros de Hipoclorito de sodio al 1%. Más tarde se introdujo uno de los grupos (G2) al mismo, mientras que el otro grupo (G1) control ingresó al brete no tratado.

A los 21 y 28 días posteriores al ingreso, se pesaron y extrajeron muestras de materia fecal de ambos grupos. Los procedimientos realizados a nivel de laboratorio fueron los mismos mencionados anteriormente.

Debido al período de sequía que se presentó a comienzos de Diciembre, nos vimos obligados a cambiarlos a potreros con mejores condiciones y de mayor superficie (12000 m² cada uno) comenzando así la última etapa de nuestro estudio.

Con ayuda de una maquina pulverizadora ensamblada a un tractor, se asperjaron 2500 litros de Hipoclorito de sodio al 1% en uno de los potreros. Se ingresaron los animales manteniendo los grupos mencionados. A intervalos semanales y durante aproximadamente un mes se continuaron con las mismas tareas de campo y de laboratorio.

Los datos fueron registrados en planillas Excel por cada fecha de muestreo durante las distintas etapas. Con el fin de determinar los cambios de Hpg y peso a lo largo del tiempo, se realizó un análisis de varianza con medidas repetidas utilizando el paquete SAS.

Además del estudio a campo se realizaron los siguientes ensayos:

Ensayo N° 1

En este primer ensayo se evaluó el efecto que producen diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio sobre el pasto. El mismo se realizó en el predio de Facultad de Veterinaria donde se armaron 6 parcelas de 1m² probándose 4 de ellas una concentración diferente de Hipoclorito de sodio dejando 2 parcelas como controles. Las concentraciones utilizadas fueron de 0,5, 1, 4 y 10% a un volumen constante de 200 ml (Ci=10%). Se asperjaron las parcelas comenzando por la solución de Hipoclorito de sodio de menor concentración siguiendo en orden creciente con las demás parcelas. Como controles de este ensayo dos de las parcelas se asperjaron con 200 ml de agua destilada. Se realizaron observaciones a las 2, 4, 24, 96, 120 horas y a las 2 y 8 semanas posteriores, documentándose por medio de fotografías.

Ensayo N° 2

Con el objetivo de evaluar el consumo de pasturas expuestas al Hipoclorito de sodio al 1 % se utilizaron dos ovinos pertenecientes a la Cátedra de Parasitología estabulados en los boxes del Laboratorio N° 3.

Antes de iniciar este estudio y durante 4 días, se ofreció a los animales pasto fresco no expuesto a la solución de Hipoclorito de sodio, como forma de verificar y acostumbrarlos a su consumo.

El trabajo consistió en recolectar y pesar diariamente 2 Kg. de pasto fresco el cual se asperjaba con 250 ml de Hipoclorito de sodio al 1 % (Ci=10%). En el primer día se ofreció el alimento 60 minutos luego de la exposición a la solución, reduciéndose el tiempo en los días siguientes a 45, 30, 15 y 0 minutos. Al finalizar con la actividad del día se suministraba fardo de Alfalfa. El trabajo se evaluó observando el comportamiento de los animales ante la oferta del alimento.

Ensayo N° 3

En este ensayo se estudió el efecto que ejerce el Hipoclorito de sodio al 1 % en el desarrollo de huevo a larva infectante en cultivos de materia fecal. Para que este proceso ocurra es necesario incubar durante 7 días las heces a una temperatura de 27° C y 75 % de Humedad.

Para la realización de los coprocultivos se obtuvieron muestras frescas de materia fecal con un promedio de 1911 Hpg procedente de un cordero.

Se utilizaron para su elaboración 4 grs. de materia fecal de manera que cada coprocultivo contenía promedialmente 7644 huevos, 8 grs. de cáscara de arroz y 10 ml de agua destilada. Todos se hicieron en el mismo momento mediante la técnica de Roberts- O` Sullivan.

Se realizaron 9 grupos con 3 repeticiones cada uno totalizando 27 coprocultivos.

El grupo control negativo se asperjó diariamente con 2 ml de agua destilada mientras que el grupo control positivo fue expuesto a 2 ml de Hipoclorito de sodio al 1% todos los días (Ci=10%).

Los grupos numerados del 0 al 6 indican el día de evolución del coprocultivo y el momento en que fueron asperjados con 2 ml de Hipoclorito de sodio en sustitución al agua destilada como se muestra en la tabla siguiente:

Tabla 1: Cronograma de aspersión de los coprocultivos.

CULTIVOS	Lun 28/6	Mar 29/6	Mier 30/6	Jue 1/7	Vier 2/7	Sáb 3/7	Dom 4/7	Lun 5/7
Control -	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
Control +	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo
0	Hipo	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
1	AD	Hipo	AD	AD	AD	AD	AD	AD
2	AD	AD	Hipo	AD	AD	AD	AD	AD
3	AD	AD	AD	Hipo	AD	AD	AD	AD
4	AD	AD	AD	AD	Hipo	AD	AD	AD
5	AD	AD	AD	AD	AD	Hipo	AD	AD
6	AD	AD	AD	AD	AD	AD	Hipo	AD

Hipo-Hipoclorito de sodio AD-agua destilada

Al cabo de 8 días se recuperaron las larvas infectantes. Para su recuento se comenzó por homogeneizar cada suspensión debido a que las larvas activas tienden a agruparse. Después se midió el volumen de cada una de ellas (10 ml), se tomó una medida conocida (1 ml) que se colocó en una caja de Petri chica. De acuerdo a la concentración de larvas recuperadas de cada uno de los coprocultivos hicimos tantas diluciones como fueran necesarias para poder contarlas a través de una lupa estereoscópica. Para la identificación de los géneros se utilizaron las mismas claves mencionadas anteriormente.

Se registraron los datos, se calcularon la Media Geométrica y el Porcentaje de reducción de larvas para cada grupo de coprocultivos.

Ensayo N° 4



En este último ensayo se probó Hipoclorito de sodio al 1% a distintos volúmenes, en diferentes tipos y largos de pasturas. Este estudio se llevó a cabo en el Campo Experimental N° 2 de Facultad de Veterinaria.

Como variable para tipo de pasto se eligieron praderas compuestas por Trébol blanco, Lotus spp. y Raigrass y campo natural con predominio de gramíneas.

En relación al largo de pasto se utilizaron como variables pradera y gramínea cortas de 5 a 10 cm que habían sido previamente pastoreadas por ovinos y pradera y gramínea largas de 25 a 30 cm.

Con respecto a los volúmenes, se utilizaron 100, 250 y 500 ml de Hipoclorito de sodio al 1% (Ci=10%).

Se armó una parcela de 4 m² para cada tipo y largo de pasto totalizando 4 parcelas. Todas ellas fueron sembradas mediante aspersión con 500L3/m². Cada una se subdividió quedando una superficie de 1 m² por cada volumen a probar, más un grupo control. A continuación se asperjaron los distintos volúmenes de Hipoclorito de sodio utilizando para ello pulverizadores manuales.

Luego de 24 horas se recolectó una muestra de pasto por cada m². Se identificaron con el volumen, tipo y largo correspondiente. Al llegar al laboratorio se ajustó el peso de todas las muestras a 90grs. Luego de hacer el lavado de pasto, se recuperaron las larvas mediante la técnica de Baermann. Se mataron las larvas con solución de Lugol facilitando así su recuento e identificación, debido a que las larvas de vida libre (NVL) se tiñen más mientras que las parásitas lo hacen con menor intensidad.

Una vez que las pasturas se secaron, se pesaron nuevamente las muestras para calcular las siguientes relaciones: L3 ovinos/kg.p.s y NVL/kg.p.s.

RESULTADOS

Estudio a campo

En los siguientes gráficos y tablas se representa la evolución de Hpg de los distintos grupos en las tres etapas de este trabajo:

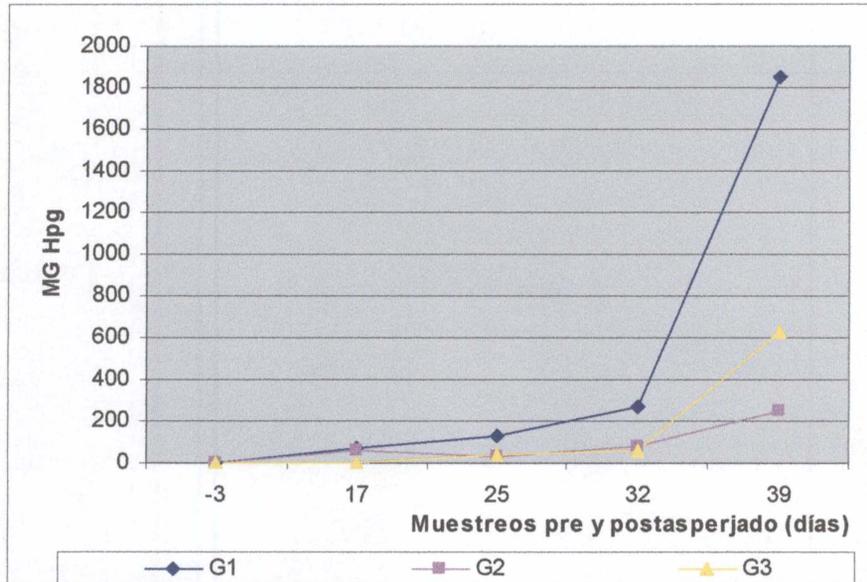


Figura 1: Evolución de Hpg en la primera etapa.

Tabla 2: Valores de MG de Hpg en la primera etapa.

Muestras	MG Hpg		
	G1	G2	G3
-3	2	4	2
17	69	57	3
25	129	28	43
32	270	85	56
39	1851	246	630

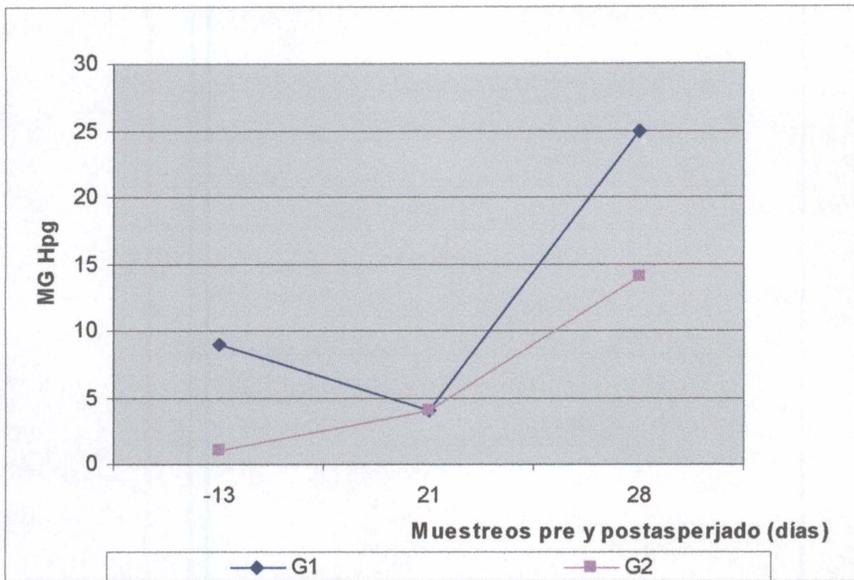


Figura 2: Evolución de Hpg en la segunda etapa.

Tabla 3: Valores de MG de Hpg en la segunda etapa.

Muestreos	MG Hpg	
	G1	G2
-13	9	1
21	4	4
28	25	14

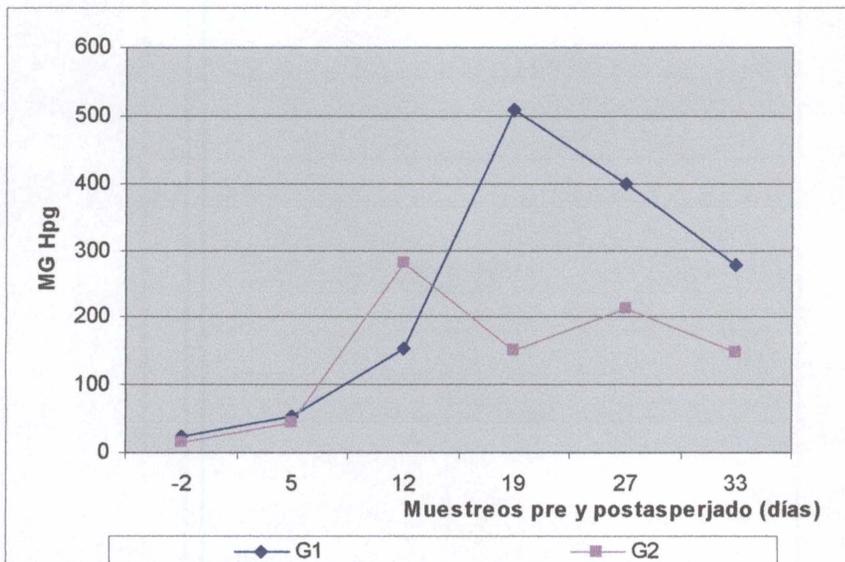


Figura 3: Evolución de Hpg en la tercera etapa.

Tabla 4: Valores de MG de Hpg en la tercera etapa.

Muestreos	MG Hpg	
	G1	G2
-2	25	14
5	54	45
12	153	280
19	507	151
27	398	214
33	277	147

Los resultados del estudio coproparasitológico de la primera etapa, indican que los borregos que pastoreaban en los potreros asperjados con Hipoclorito de sodio (G2 y G3) tuvieron menores conteos de huevos de nemátodos gastrointestinales en comparación con el grupo control (G1). Sin embargo estas diferencias no fueron significativas hasta el muestro del día 32 ($P>0.05$). Luego de este muestreo si se hallaron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos con tratamiento ($P<0.05$) pero no entre el G2 y G3 ($P>0.05$).

Si bien no hubo variación significativa en la media geométrica de los Hpg en los diferentes muestreos de la segunda etapa ($P>0.05$), el grupo de animales que estuvo en las pasturas tratadas (G2) presentó niveles de Hpg iguales o menores que el grupo control (G1).

En la figura 3 se observa que a partir del cuarto muestreo (equivalente a 19 días posteriores a la aspersión) en el cual ronda el período prepatente más corto, el grupo 2 presenta valores inferiores de Hpg con respecto al grupo 1. No se obtuvieron diferencias significativas en las MG de Hpg a lo largo de esta etapa ($P>0.05$).

La distribución de los géneros parasitarios obtenidos por medio de coprocultivos en las diferentes etapas se muestra a continuación:

Tabla 5: Porcentajes de larvas por género parasitario de los coprocultivos.

	H	T	O	C	Oe
Etapa N°1	84	11	4	0	0
Etapa N°2	96	4	0	0	0
Etapa N°3	93	7	0	0	0

H- Haemonchus; T- Trichostrongylus; O- Ostertagia; C- Cooperia; Oe- Oesophagostomun

A continuación se muestran los gráficos de la evolución del Peso vivo de los animales en las tres etapas:

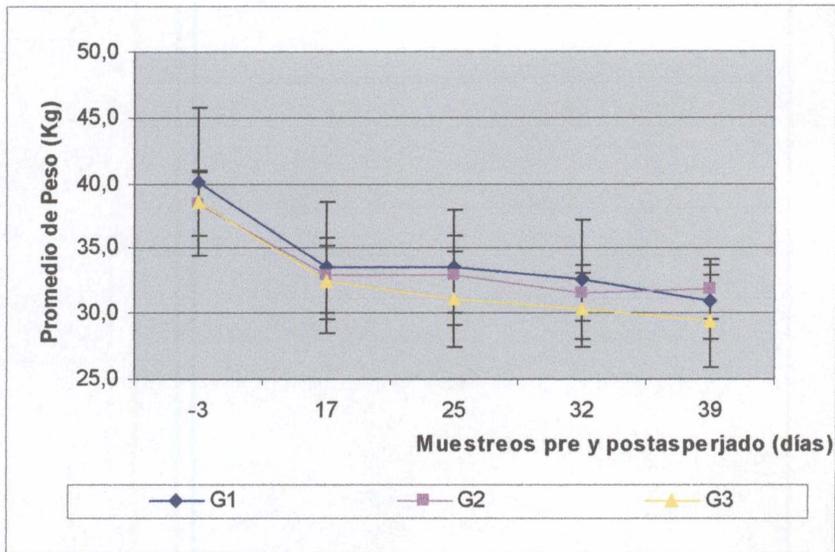


Figura 4: Evolución de Peso vivo en la primera etapa.

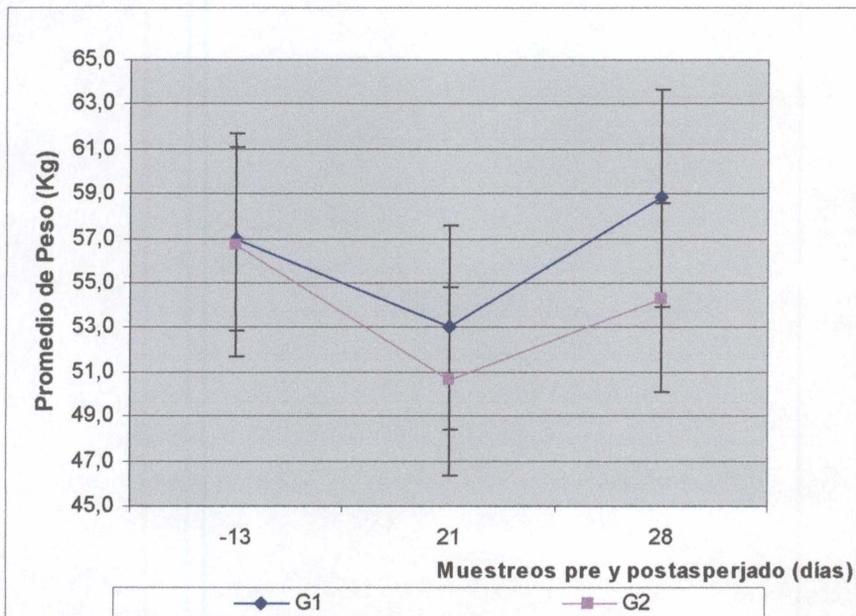


Figura 5: Evolución de Peso vivo en la segunda etapa.

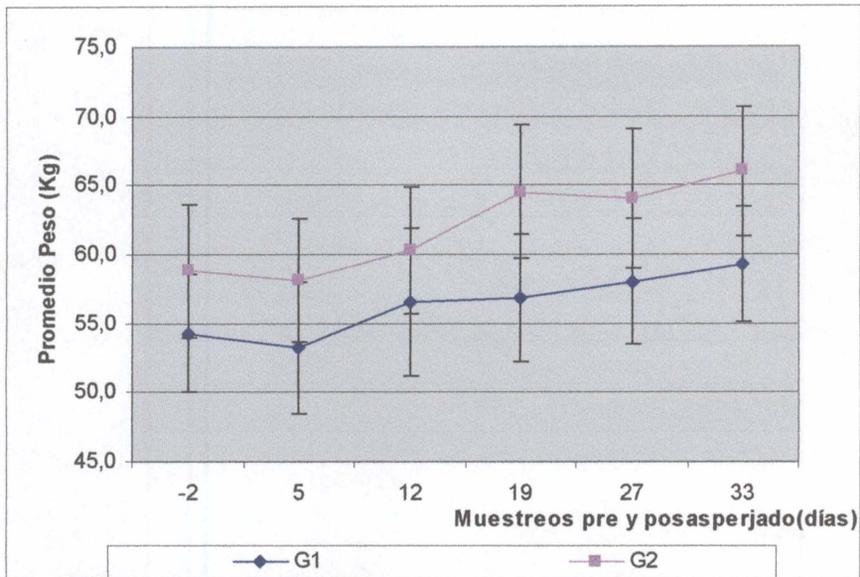


Figura 6: Evolución de Peso vivo en la tercera etapa.

En la primera etapa no existieron diferencias significativas en la ganancia de peso de los distintos grupos ($P > 0.05$). No obstante, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el peso del G1 con respecto al G2 en el último muestreo de la segunda etapa a favor de G1 y en los tres últimos muestreos de la etapa final a favor de G2.

Lectura de Pastos

El siguiente gráfico muestra el efecto del Hipoclorito de sodio sobre las L3 en la pastura durante la primera etapa:

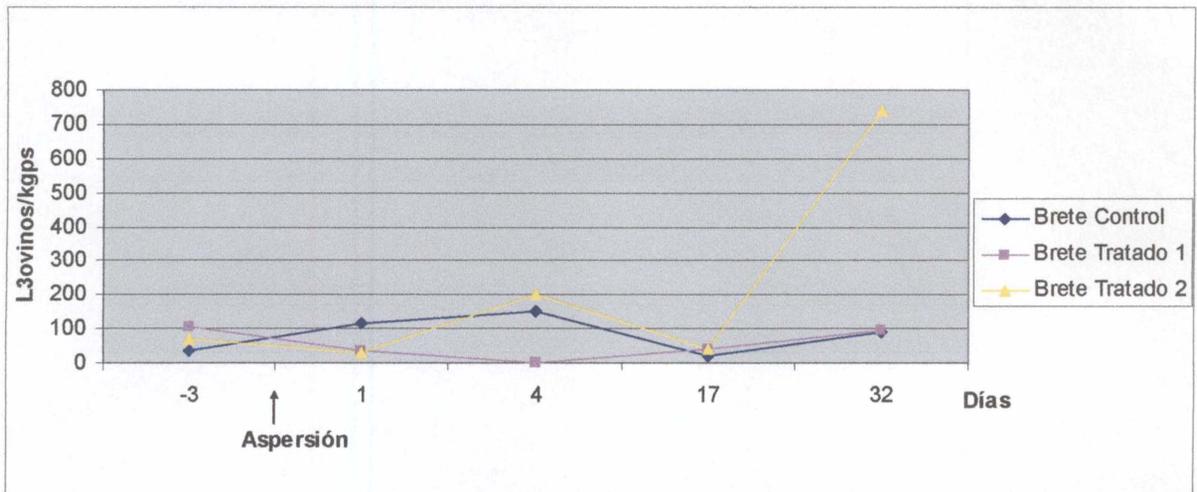


Figura 7: Efecto del Hipoclorito de sodio sobre las L3 de ovinos en las pasturas.

En el primer brete de tratamiento existió una disminución del 67% en la recuperación de larvas infectantes mientras que en el segundo brete tratado la reducción fue del 54% luego de 24 horas de la aspersión con Hipoclorito de sodio al 1% con respecto a la relación de L3/kg.p.s. inicial. Por el contrario, el brete control aumentó 2.5 veces esta relación.

Luego de 4 días de la aspersión, se obtuvo tanto en el brete control como en el brete tratado 2 un aumento de 3.5 y 2 veces respectivamente en la cantidad de larvas recuperadas de la pasturas comparado con el resultado inicial. No se recuperaron larvas infectantes en el brete tratado 1.

Como se puede ver en el gráfico, en el día 17 tanto el brete tratado 2 como el brete control mostraron una reducción en el conteo de larvas infectantes por kilogramo de pasto seco mientras que en el muestreo del día 32 se observó un aumento. En lo concerniente a los nemátodos de vida libre se halló un descenso en su número 24 horas posteriores a la aspersión en los Bretes tratados. No obstante en los muestreos sucesivos se recuperó igual cantidad de NVL que en el brete control.

Ensayo N° 1

Se observaron importantes cambios de coloración, virando del verde al amarillo -indicando que el pasto se ha secado- en las pasturas expuestas a concentraciones mayores al 1%. Cuando se comparan las parcelas expuestas a concentraciones de 0.5 y 1 % antes y después del Hipoclorito no se detectaron grandes diferencias. Pequeñas diferencias pueden apreciarse al comparar las parcelas de 0.5 y 1% con las parcelas control, no asperjadas. Ver figuras 8 y 10.



Figura 8: Parcelas previo a la aspersión.

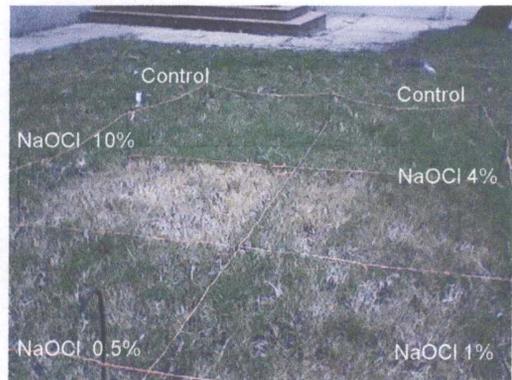


Figura 10: Parcelas 5 días postaspersión.



Figura 9: Modo de aspersión.

Ensayo N° 2

No fueron visibles conductas de rechazo ante la oferta de las pasturas después de una hora de asperjadas con Hipoclorito de sodio a la concentración utilizada. Cuando la pastura ofrecida tenía 45 minutos o menos de expuesta al Hipoclorito de sodio los animales no la consumían inmediatamente sino que lo hacían unos minutos después de olerla. De todas maneras este comportamiento no impidió que los ovinos ingirieran satisfactoriamente el pasto.

Ensayo N° 3

Los resultados obtenidos de la aspersión de Hipoclorito de sodio en días sucesivos en grupos de coprocultivos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6: Número de larvas recuperadas de los coprocultivos.

Día de Aspersión	Repeticiones			MG
	A	B	C	
Control -	1700	1700	3500	2163
Control+	0	10	0	2
0	600	450	880	619
1	440	1600	1600	1040
2	4000	1600	1900	2300
3	1030	230	520	498
4	430	880	2100	926
5	580	310	630	484
6	2700	240	720	776

El valor de la media geométrica para el grupo control negativo fue de 2163 larvas. El grupo control positivo tuvo una media geométrica de 2 larvas representando un porcentaje de reducción de 99.9 con respecto al número de larvas obtenidas en el grupo control negativo.

En los coprocultivos de los días 0 y 1 se recuperaron 62.9% menos larvas que en los controles negativos siendo los valores de media geométrica de 619 y 1040 respectivamente.

Para los grupos 2 y 3 las medias geométricas fueron de 2300 y 498. En estos grupos existió una reducción del 50.5% en el recuento de larvas comparado con el grupo control negativo.

Se recuperaron 69 % menos larvas en los grupos del día 4 y 5 cuyos valores de medias geométricas fueron de 926 y 484.

En el coprocultivo del día 6 se obtuvo un 71.7 % de reducción comparado con el grupo control negativo teniendo un valor de media geométrica de 776.

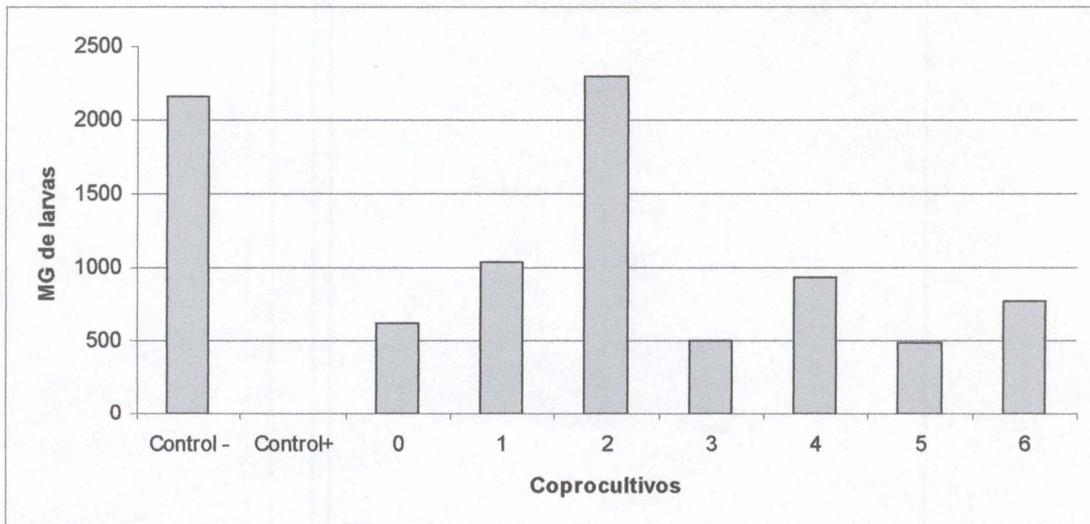


Figura 11: Media Geométrica de larvas recuperadas en los diferentes coprocultivos.

En relación a la identificación de larvas se encontró un predominio de *H. contortus* (93-98%) seguido por el 2-7% de *Trichostrongylus spp.*, no hallándose otros géneros parasitarios.

Ensayo N° 4

Al comparar la variable volumen con la variable largo de pasto se observó que cuando el pasto es corto, 100ml de Hipoclorito de sodio al 1% fueron suficientes para obtener una reducción mayor al 50% en la recuperación de larvas. En cambio en las pasturas largas no se obtuvieron resultados concluyentes como se muestra en el siguiente gráfico:

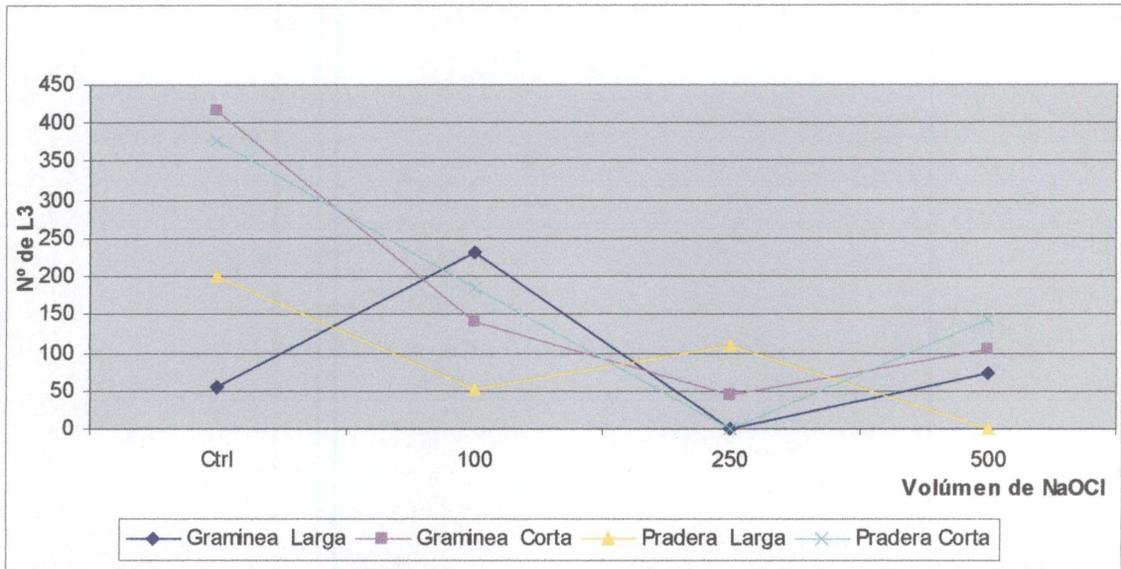


Figura 12: L3 de ovinos/Kg. pasto seco en relación al volumen de NaOCl.

En lo que concierne a los nemátodos de vida libre, en las gramíneas no se observaron grandes cambios en la relación NVL/kg.p.s en los distintos volúmenes de Hipoclorito de sodio al 1% comparado con las parcelas control. En cambio, en las praderas expuestas a la solución la población de nemátodos de vida libre fue menor que la recuperada en las parcelas control.

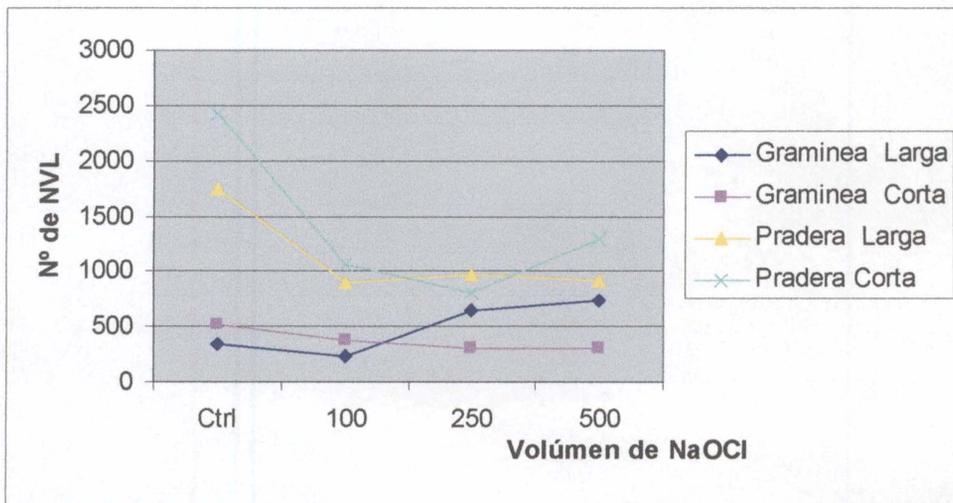


Figura 13: NVL/Kg. pasto seco en relación al volumen de NaOCl.

DISCUSIÓN



Ensayo a campo

González y col (2010) reportan diferencias significativas ($P < 0.05$) en los recuentos de Hpg entre los animales que pastoreaban en el potrero asperjado con Hipoclorito de sodio y el grupo control en el día 20. En cambio, en nuestro estudio esas diferencias se encontraron en el muestreo del día 39 postaspersión.

En el estudio realizado por González y col, los animales ingresaron a los potreros con altas cargas parasitarias debido a fallas en la desparasitación. Además, los potreros presentaban una contaminación natural muy alta influida en gran parte por las condiciones de clima cálido favoreciendo de esta manera la supervivencia de las larvas en las pasturas.

De manera contraria, en nuestro estudio los animales comenzaron con valores de Hpg menores a 40. A pesar de haber sembrado larvas en los Bretes, los resultados de las lecturas de pasto demostraron una baja contaminación de las pasturas a lo largo de la primera etapa. La infestación de los borregos fue adquirida únicamente por ingestión de larvas presentes en la pastura. Todo esto determinó que los recuentos de huevos por gramo en los diferentes grupos permanecieran bajos hasta el día 32. Los nemátodos hembras a medida que maduran eliminan más huevos lo que explica el aumento de Hpg en los muestreos del día 39.

La evolución de Hpg de la segunda y tercera etapa sigue la misma tendencia observada en la primera etapa antes del muestreo del día 39. Lamentablemente, en las dos últimas etapas no fue posible continuar con los muestreos debido a la baja disponibilidad de alimento ya que en ese momento comenzaba a registrarse un déficit hídrico importante que desembocaría en la sequía del verano 2010-2011.

Por otro lado, a lo largo de la segunda etapa no obtuvimos altos recuentos de Hpg posiblemente porque partimos de una baja contaminación de los potreros. Estos potreros habían sido pastoreados por ovejas con cría al pie no dosificadas, por lo que cabía esperar al menos una contaminación media. Por esta razón se sembraron menos $L3/m^2$ que en la primera etapa. Evidentemente los resultados de los análisis coprológicos posteriores evidenciaron la baja contaminación de larvas infectantes en la pastura.

Desde el inicio hasta el penúltimo muestreo de la primera etapa, los animales de todos los grupos disminuyeron su peso principalmente por la falta de alimento y no por el Hpg que hasta ese momento era bajo como lo comprueba el estudio estadístico. Sin embargo, en el último muestreo los valores de Hpg influenciaron sobre el peso principalmente en los grupos 1 y 3 mientras que en el grupo 2 el peso se mantuvo dado que el Hpg fue el más bajo.

En la segunda etapa, debido a la drástica disminución de peso los animales fueron suplementados con fardo a partir del día 21, esperando un cambio en las condiciones climáticas que finalmente no se dio. Por esta razón, y porque la carga parasitaria medida en Hpg continuaba baja, los animales recuperaron peso en esa semana, como lo confirma la medición del día 28.

En la tercera etapa no hubo diferencias significativas en los valores de Hpg. Sin embargo, en los tres últimos muestreos se obtuvieron diferencias significativas entre los pesos del grupo control y los del grupo a prueba a favor de este último. Esto se debe a que los animales disponían de mayor superficie de pastoreo lo cual permitió extender el ensayo hasta el día 33.

Ensayo N° 1

Como era de esperar, la aspersión con altas concentraciones de Hipoclorito de sodio secan las pasturas mientras que concentraciones más bajas mostraron un efecto menor en el pasto. Los mismos resultados fueron encontrados por González y col. (2010) utilizando una concentración de 0.53%. Nuestros resultados demostraron que incluso concentraciones de hasta 1% no producen demasiados efectos negativos en la pastura. Los efectos sobre el pasto de las concentraciones más altas (4 y 10%) fueron evidentes hasta pasadas varias semanas luego de la aplicación del Hipoclorito. En este ensayo se evaluó el efecto del Hipoclorito de sodio de forma subjetiva sin embargo sería importante realizar más estudios que determinen el efecto que produce esta solución sobre los componentes tanto de las plantas como del suelo.

Ensayo N° 2

Los animales no mostraron rechazo al pasto asperjado con Hipoclorito de sodio al 1% independientemente del tiempo de exposición. El Hipoclorito se inactiva rápidamente y especialmente en contacto con materia orgánica. Se libera el cloro activo y quedan algunos residuos de sales inorgánicas. (Sánchez, 2005). La concentración de Hipoclorito utilizada en este ensayo es prácticamente la misma que se utiliza en el hogar para la desinfección de verduras, no añadiendo al alimento sabor extraño o rechazable.

Ensayo N° 3

La solución de Hipoclorito de sodio al 1% ejerció su efecto sobre todos los estadios extraparásitarios de los nemátodos de ovinos.

En un estudio realizado por Morrondo y col (2006) observaron un 50% de degeneración en los huevos de *Toxocara canis* utilizando una solución de Hipoclorito de sodio al 2%. Posiblemente un efecto similar sucedió en nuestro ensayo, cuando se expusieron los coprocultivos correspondientes a la etapa de huevo (días 0 y 1) a una solución de Hipoclorito de sodio al 1% obteniendo una reducción en la formación de larvas de 62.9%.

El mecanismo de acción del Hipoclorito de sodio sobre las larvas de primer y segundo estadio así como de los nemátodos de vida libre no ha sido descrito. Además de una posible acción directa podría llegar a afectar de forma indirecta a éstos estadios atacando a los hongos y bacterias de las cuales se alimentan. Esto explicaría la reducción de 50.5-69% en la obtención final de larvas cuando los coprocultivos se asperjaron entre los días 3 y 5.

Amir (2007) mediante un ensayo realizado *in vitro* obtuvo un 100% de desenvainado luego de exponer a las larvas infectantes al Hipoclorito de sodio al 1% en 2.5 minutos. Esto explicaría la disminución del 71.7% en la recuperación de larvas correspondientes a los coprocultivos del día 6 encontrada en este ensayo.

Ensayo N° 4

Uno de los mayores inconvenientes al pretender saber el efecto del Hipoclorito de sodio sobre las larvas infectivas de nemátodos gastrointestinales en los pastos fue la variabilidad que presentaron los datos. A los factores que producen dicha variabilidad como ser el clima, el método de muestro y tipo de forraje hay que sumarle las pérdidas que se producen desde la recolección del pasto hasta la recuperación de las larvas que pueden significar del 20 al 60% del total (Ferreyra y col., 2002). Es por esta razón que en las parcelas control no recuperamos el 100% de las larvas sembradas para los distintos tipos y largos de pastos.

Los resultados demostraron que el Hipoclorito de sodio redujo a la mitad el número de larvas en las pasturas cortas. Por el contrario, la información que obtuvimos de las pasturas largas no es contundente.

Consideramos que el muestreo de 90 grs. fue más representativo de la superficie total de las parcelas en las pasturas cortas que en las pasturas largas. Lo ideal hubiera sido recolectar el total del pasto de cada una de las parcelas para poder comparar mejor los datos obtenidos.

CONCLUSIONES

Cuando los animales son ingresados a pasturas asperjadas con Hipoclorito de sodio con niveles bajos de Hpg, resultados significativos en las cargas parasitarias se aprecian al día 39.

En nuestro estudio, los grupos de animales que pastoreaban en pasturas no asperjadas con Hipoclorito probablemente hubieran requerido una dosificación al final del período de ensayo. Esto significa que la aspersión con Hipoclorito pudo evitar al menos una dosificación en este período, con la consecuente disminución en la presión por selección de resistencia de la población parasitaria.

Debido a la alta dotación y a condiciones climáticas adversas que afectaron la disponibilidad de alimento, en el presente trabajo no se puede concluir que la ganancia de peso de los animales expuestos a pasturas asperjadas con Hipoclorito fuera mayor que en el grupo de animales que pastoreaban en potreros no tratados a pesar de haber encontrado diferencias significativas en los pesos a favor del grupo "prueba" en los últimos muestreos de la tercera etapa.

Los géneros parasitarios más prevalentes en las tres etapas fueron *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp* y *Ostertagia spp* respectivamente.

De acuerdo a las observaciones realizadas en este estudio, podemos concluir que el Hipoclorito de sodio, hasta una concentración de 1%, podría ser utilizado en los campos con pocos efectos adversos visibles sobre las pasturas y sin necesidad de retirar a los animales del potrero en el momento de la aspersión, puesto que no se produce rechazo por parte de los animales.

El Hipoclorito de sodio al 1% *in Vitro* mostró tener efecto sobre todos los estadios extraparasitarios. Esto podría sumar beneficios cuando se asperja en los potreros ya que no sólo se estaría reduciendo la contaminación de larvas infectantes en la pastura sino también sus estadios previos.

De los resultados obtenidos, debemos tener en consideración que la aplicación de 100 ml/m² es suficiente para reducir la infestación de los potreros de forma satisfactoria cuando la altura de los pastos es apta para el consumo del ganado ovino. No podemos descartar el uso de Hipoclorito de sodio en pasturas largas siendo importante realizar estudios adicionales sobre esta variable.

La aspersión de los campos con Hipoclorito de sodio al 1% con fines prácticos podría utilizarse estratégicamente para disminuir las cargas parasitarias cuando las condiciones climáticas sean favorables para el desarrollo de las fases extraparasitarias. Esta simple práctica de manejo no solo reduce el número de larvas infectantes presentes, sino que también podría reducir la dependencia de los productores con los antihelmínticos en el control de los nematodos gastrointestinales y reduciendo la frecuencia de aplicación de drogas y por lo tanto disminuyendo el riesgo de presión para la selección para resistencia antihelmíntica.

El Hipoclorito de sodio podría aplicarse como una nueva estrategia en el control de nemátodos en las pasturas, aunque habría que establecer la metodología ideal para su aplicación. Más investigaciones son necesarias para establecer en que momento sería adecuada una nueva aspersión con Hipoclorito de sodio y estudiar sus efectos medio ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Amir, A (2007)**. Control de nemátodos en pasturas, ¿una práctica viable? 16° Encuentro Rioplatense de Veterinarios Endoparasitólogos. Santa Rosa, Argentina. Comunicación personal: 10 de octubre de 2010.
2. **Arece, J; Rodríguez, J G; López, Y (2007)**. La metodología FAMACHA: Una estrategia para el control de estrongilidos gastrointestinales de ovinos. Estudios preliminares. Rev. Salud. Anim. 29(2):91-94.
3. **Armour, J (1980)**. The epidemiology of helminth disease in farm animals. Vet. Parasitol. 6:7-46.
4. **Athanasiadou, S; Githiori, J; Kyryazakis, I (2007)**. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. Animal 1(9):1392-1400.
5. **Bang, K S; Familton, A S; Sykes, A R (1990)**. Effect of copper oxide wire particle treatment on establishment of major gastrointestinal nematodes in lambs. Res. Vet. Sci. 49(2):132-137.
6. **Barry, T N; Manley, T R (1984)**. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. Brit. J. Nutr. 51:463-504.
7. **Bonino, J (2003)**. Resistencia antihelmíntica de Parásitos Gastrointestinales en Ovinos. En: Castells D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Roma, FAO, p.55-60.
8. **Bustamante, M; Steffan, P; Bonino, J; Etchevarria, F; Fiel, C; Cardozo, H; Castells, D; Hosking, B (2009)**. The efficacy of Monepantel, an amino-acetonitrile derivative, against gastrointestinal nematodes of sheep in three countries of Southern Latin American. Parasitol. Res. 116(1):139-144.
9. **Campbell, W C (1990)**. Benzimidazoles: Veterinary Uses. Parasitol. Today 6 (4):130-133.
10. **Campbell, L; Gaugler, R (1991)**. Mechanims for Exsheathment of entomopathogenic nematodes. Int. J. Parasitol. 21(2):219- 224.
11. **Castells, D (2002)**. Nuevo enfoque parasitario de ovinos. En: Jornada técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p.14-22.
12. **Castells, D (2005)**. Métodos de control de nemátodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en resistencia genética: situación actual y perspectivas (Revisión). Prod. Ov. 17:21-36.
13. **Castells, D (2007)**. Métodos integrados de control de parásitos gastrointestinales: Manejo de pastoreo.
Disponible en:[www.produccionanimal.com.ar/sanidad,intoxicaciones,metabólicas,empaste/enfermedadesparasitarias:en general y bovinos](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad,intoxicaciones,metabólicas,empaste/enfermedadesparasitarias:en%20general%20y%20bovinos).
Fecha de consulta: 3 de setiembre del 2010.

14. **Coles, G C; Bauer, C; Borgsteede, F H; Geerts, S; Klei, T R; Taylor, M A; Waller, P J (1992).** World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44:35-44.

15. **Colins, J (1998).** Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos.
 Disponible en: http://cal.vet.upenn.edu/projects/merial/Nematodes/nems_7.htm.
 Fecha de consulta: 3 de octubre del 2010.

16. **Conder, G A; Johnson, S S (1996).** Viability of infective larvae of *Haemonchus contortus*, *Ostertagia ostertagi* and *Trichostrongylus colubriformis* following exsheathment by various techniques. *J. Parasitol.* 82(1):100-102.

17. **Couvillion, C E (1993).** Estimation of the numbers of trichostrongilid larvae on pastures. *Vet. Parasitol.* 46:197-203.

18. **Cuéllar, A (2007).** Control no farmacológico de parásitos en ovinos. Nemátodos gastrointestinales. En: V Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.
 Disponible en: www.produccionanimal.com.ar/sanidad,intoxicaciones,metabolicas,empaste/enfermedadesparasitarias:ovinos.
 Fecha de consulta: 3 de setiembre del 2010.

19. **Dalton, J P; Mulcahy, G (2001).** Parasite vaccines- a reality? *Vet. Parasitol.* 98: 149-167.

20. **Fernández, D; Hernández, Z; Kemayd, J; Soares de Lima, A; Urrutía, J I; Villegas, N, Bentancur, O (2000).** Efecto de los nemátodos gastrointestinales sobre la productividad de ovejas Corriedale y Merino. II. Actividad ovárica, mortalidad y crecimiento de los corderos. *Prod. Ov.* 13:105-116.

21. **Ferreyra, D A; Steffan, P F; Fiel C A; González, F (2002).** Dinámica estacional y diaria en las pasturas de poblaciones de nematodos trichostrongylideos de bovinos. *Rev. Inv. Agrop.* 31 (2):25-38.

22. **Fiel, C; Steffan, P (1994).** Epidemiología de los nemátodos gastrointestinales en la Pampa húmeda. En: Nari, A; Fiel, C. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos, Montevideo, Hemisferio Sur, p.67-94.

23. **García, C (2006).** Control de las helmintosis en ganadería ecológica. Hojas divulgadoras, N° 2118 HD, Sociedad Española de Agricultura Ecológica, p.1-27.

24. **Glaser, R W; Stoll, N R (1940).** Exsheathment and sterilizing infective nematode larva. *J. Parasitol.* 26(2):87.

25. **González, R; Cordero, J C; Torres, G; Arece, J; Mendoza de Gives, P (2010).** Efecto del hipoclorito de sodio y extracto de cítricos en la reducción de la infestación de ovinos con nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos. *Rev. Mex. Cien. Pec.* 1 (2):179-187.

26. **Graminha, E; Costa, A; Oliveira, G; Monteiro, A; Palmeira, S (2005).** Biological control of sheep parasite nematodes by nematode-trapping fungi: in vitro activity and after passage through the gastrointestinal tract. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21:717-722.
27. **Howell, J M; Luginbuhl, J-M; Grice, M J; Anderson, K L; Arasu, P; Flowers, J R (1999).** Control of gastrointestinal parasite larvae of ruminant using nitrogen fertilizer, limestone and sodium hypochlorite solutions. *Small Rum. Res.* 32:197-204.
28. **Joachim, A; Ruttkowsky, B; Dauschies, A (2005).** Ecdysis of *Oesophagostomum*: Possible involvement of eicosanoids and development of a bioassay. *Parasitol. Res.* 95:391-397.
29. **Judson, G J; Brown, T H; Gray, D; Dewey, D W; Edwards, J B; McFarlane, J D (1982).** Oxidized Copper Wire Particles for Copper Therapy in Sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 33(6):1073-1083.
30. **Junquera, P (2010a).** Organofosforados para el control de ectoparásitos en el ganado bovino, ovino, caprino, porcino y aviar. Disponible en: <http://parasitosdelganado.net>. Fecha de consulta: 12 de octubre del 2010.
31. **Junquera, P (2010b).** Plantas medicinales antihelmínticas para el control de gusanos parásitos internos del ganado. Disponible en: http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&view=article&id=384&Itemid=462. Fecha de consulta: 12 de octubre del 2010.
32. **Kaminsky, R; Ducray, P; Jung, M; Clover, R; Rufener, L; Bouvier, J; Schorderet Weber, S; Wenger, A; Wieland-Berghausen, S; Goebel, T; Gauvry, N; Pautrat, F; Skripsky, T; Froelich, O; Komoin-Oka, C; Westlund, B; Sluder, A; Mäser, P (2008).** A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature* 452:176–180.
33. **Kelly, J D; Campbell, W C; Whitlock, H V (1976).** Infectivity of *Ancylostoma caninum* larvae after freezing over liquid nitrogen. *Aust. Vet. J.* 52: 141-143.
34. **Laboratorio Central Veterinario (1973).** La determinación de infestación de los pastos. En: Laboratorio Central Veterinario. Manual de técnicas de parasitología veterinarias. Zaragoza, Acriba, p.53-56.
35. **Lacey, E (1990).** Mode of Action of Benzimidazoles. *Parasitol. Today* 6(4):112-115.
36. **Lanusse, C E (1994).** Bases Farmacológicas de la Terapéutica Antihelmíntica. En: Nari, A; Fiel, C. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos, Montevideo, Hemisferio Sur, p.33-65.
37. **Lapage, G (1971).** Orden Strongyloidea Familia Trichostrongylidae. En: *Parasitología Veterinaria, México, CECSA*, p. 121-142.
38. **Larsen, M (2006).** Biological control of nematode parasite in sheep. *J. Anim. Sci.* 84:E133. Disponible en: http://jas.fass.org/egi/content/full/84/13_suppl/E133. Fecha de consulta: 3 de Diciembre del 2010.

39. **Lenntech (2010)** Desinfectantes: Hipoclorito de sodio. Disponible en: <http://www.lenntech.es/procesos/desinfección/quimica/desinfectantes-hipoclorito-de-sodio.htm#ixzz0n5868dwg>. Fecha de consulta: 10 de noviembre del 2010.
40. **Lifschitz, A; Virkel, G; Imperiale, F; Pis, A; Lanusse, C E (2002)**. Fármacos endectocidas: Avermectinas y Milbemicinas. En: Botana, L M; Landoni M F; Jiménez T M. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, p. 545-558.
41. **Lützelshwab, C (2007)**. Inmunidad. En: Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. INTA, Publicación Técnica N° 70, p.145-158.
42. **Meana, A; Rojo, F A; (1999)**. Tricostrogilidosis y otras nematodosis. En: Cordero del Campillo, M; Rojo, F A. Parasitología Veterinaria. Madrid, McGraw Hill, p.237-253.
43. **Mederos, A E (2002)**. Epidemiología de los nematodos gastrointestinales de los ovinos en Uruguay. Jornada técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p. 2-5.
44. **Mederos, A; Salles, J; Berretta, E J; Levratto, J C; Zamit, W; González, H (2002)**. Utilización de pasturas "seguras" como método de control de las parasitosis gastrointestinales en corderos de destete. Jornada técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p.27-31.
45. **Mederos, A; Montossi, F; De Barbieri, I; San Julián, R; Risso, F (2002)**. Nutrición e interacción con las parasitosis. Jornada técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p. 32-39.
46. **Min, B R; Hart, S P (2003)**. Tannins for suppression of internal parasites. J. Anim. Sci. 81: E 102-109. Disponible en: http://jas.fass.org/cgi/content/full/81/14_suppl_2/E102.
47. **Morrondo, P; Díez, C; Pedreira, J; Díez, N; Sánchez, R; Paz, A; Díez, P (2006)**. *Toxocara canis* larvae viability after disinfectant-exposition. Parasitol. Res. 99 (5):558-561.
48. **Nari, A; Cardozo, H; Berdié, J; Canábez, F; Bawden, R (1977)**. Dinámica de población para nemátodos gastrointestinales de ovinos en Uruguay. Veterinaria (14) 66:11-24.
49. **Nari, A; Cardozo, H (1987)**. Enfermedades causadas por parásitos internos. En: Bonino, J; Durán del Campo, A; Mari, J J. Enfermedad de los lanares, tomo I. Montevideo, Hemisferio Sur, p. 1-55.
50. **Nari, A; Salles, J; Gil, A; Waller, P J; Hansen, J W (1996)**. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasitic of sheep in Southern Latin America: Uruguay. Vet. Parasitol. 62:213-222.

51. **Nari, A; Salles, J; Castells, D; Hansen, J (1997).** Control of gastro-intestinal nematodes in the farming systems of Uruguay. Proceedings of a workshop organized by FAO and the Danish Centre for Experimental Parasitology. FAO 141:89-94.
52. **Nari, A (2003).** Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina. *Prod. San. Anim.* 157:9-43.
53. **Navarro, R; Alvarez, L; Aguilera, M; Bórquez, F (2009).** Resultados y Lecciones en Control Biológico de nemátodos en ovinos. Proyecto de Innovación. En: XII Región de Magallanes Fundación para la innovación agraria. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. N° 29, p.7-11.
54. **Newton, S E; Munn, E A (1999).** The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus*. *Parasitol. Today* 15(3):116-122.
55. **Newton, S E; Meeusen, E N T (2003).** Progress and new technologies for developing vaccines against gastrointestinal nematode parasites of sheep. *Parasit. Immunol.* 25:283-296.
56. **Niec, R (1968).** Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Manual Técnico, INTA N° 3, p. 37.
57. **Niezen, J H; Waghorn, T S; Charleston, W A G; Waghorn, C G (1995).** Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either Lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *J. Agric. Sci.* 125 (2):281. (Abstract).
58. **Niezen, J H; Waghorn, C G; Charleston, W A G (1998).** Establishment and fecundity of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in lambs fed lotus (*Lotus pedunculatus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Vet. Parasitol.* 78:13 (Abstract).
59. **Orozco, M; Álvarez, V; Jiménez, A; Acuña, O (2009).** Evaluación *in vitro* de hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos gastrointestinales de rumiantes. *Revista MVZ Córdoba* 14 (3):1820-1830.
60. **Otero, M J; Hidalgo, L G (2004).** Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: Efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. *Livestock Research for Rural Development* Vol. 16, Art 13. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd16/2/oter1602.htm>. Fecha de consulta: 3 de setiembre del 2010.
61. **Prichard, R K; Hall, C A; Kelly, J D; Martin, I C A; Donald, A D (1980).** The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian Vet. J.* 56:239-251.
62. **Salles, J (2002).** Manejo de pastoreo con criterio parasitario. Jornada técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p.23-26.
63. **Salles, J (2003).** FAMACHA, una herramienta para controlar la Resistencia antihelmíntica en pequeños rumiantes. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. FAO. p. 41-47.

64. **Sánchez, S F; Sallovitz, J M S; Alvarez, L I; Lanusse, C E (2002).** Antiparasitarios internos. En: Botana, L M; Landoni M F; Jiménez T M. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*, Madrid, McGraw-Hill Interamericana, p. 517-544.
65. **Sánchez, L; Sáenz, E (2005).** Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana* 15 (2):93-94.
66. **Saumell, C A; Fernández, A S (2000).** Hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos parásitos de rumiantes. *Rev. Med. Vet.* 81:270-273.
67. **Saumell, C A; Fusé, C A; Iglesias, L E; Steffan, P E; Fiel, C A (2005).** El uso de antihelmínticos en los programas de control y el riesgo potencial de resistencia. En: FAO, *Resistencia a los antiparasitarios internos en la Argentina*. p.85-94.
68. **Steffan, P E; Fiel, C A; Samuell, C A; Fusé, C A; Iglesias, L E (2005).** El uso de antihelmínticos en los programas de control y el riesgo potencial de resistencia. En: FAO, *Resistencia a los antiparasitarios internos en Argentina*, p.85-94.
69. **Stromberg, B E (1997).** Environmental factors influencing transmission. *Vet. Parasitol.* 72:247-264.
70. **Suárez, V (2007a).** Fisiopatología. En: *Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*. INTA Publicación Técnica N° 70, p.123-144.
71. **Suárez, V (2007b).** Resistencia antihelmíntica en nemátodos ovinos. En: *Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*. INTA, Publicación Técnica N° 70, p.85-106.
72. **Symons, L E A (1985).** Anorexia: Occurrence, pathophysiology and possible causes in parasitic infections. *Adv. Parasitol.* 24:103-128.
73. **Titoy, G A P; Van Rensburg, L J (1997).** Cryopreservation of third-stage larvae of *Strongylus vulgaris* (large strongyle of horses). *Onderstepoort J. Veter. Res.* 64:159-160.
74. **Torres- Acosta, J F J; Hoste, H (2008).** Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Rum. Res.* 77:159-173.
75. **Van Wyk, J A (1998).** Viability of Nematode Larvae after Exsheathment with Sodium Hypochlorite. *Parasitol. Today* 14(12):474-475.