

# INHIBICIÓN DE NEMATODES GASTROINTESTINALES POR BACTERIAS PREBIÓTICAS DE ORIGEN CAPRINO

Ing. Zoot., Dra. Zoot. Diana Draksler<sup>1</sup>, Ing. Agr. Pablo Usandivaras<sup>2</sup>, Lic.Cs. Biol. María Cecilia Monferrán<sup>3</sup>, Bioq., Dra. Bioq. Silvia N. González<sup>1,4</sup>. 2007.

1.-Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET), S. M. de Tucumán, Argentina.

3.-Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Catamarca, Argentina.

4.-Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, S.M. de Tucumán, Tucumán, Argentina.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Enfermedades de los caprinos](#)

## RESUMEN

Varios ensayos in vitro evaluaron una posible acción inhibitoria de bacterias probióticas de origen caprino sobre nematodos gastrointestinales. Por medio de mini-coprocultivos se logró la interacción entre dichas bacterias y diferentes géneros de nematodos, demostrándose un efecto ovicida y/o sobre los primeros estadios larvales, de las cepas *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 cuando el grado de infestación era bajo (h.p.g. < 100). Este efecto se evidenció en materia fecal infectada con dos géneros de nematodos: *Trichostrongylus* spp. y *Nematodirus* spp. Por otro lado, *Bifidobacterium* DDBA demostró tener una acción larvicida sobre las larvas infestantes (L3) cuando la carga parasitaria de las muestras utilizadas presentaba un h.p.g menor a 700, con una diferencia notablemente significativa ( $P < 0,01$ ). El mayor número de L3 encontradas pertenecían a la especie *Strongyloides papillosus*, mientras que el resto correspondía al género *Trichostrongylus* spp. y en menor grado a *Ostertagia* spp. La acción nematocida de estas 3 bacterias puede deberse a la producción de ácidos orgánicos u otro metabolito que, en el caso de *Lactobacillus* DDL19 y DDL48, provocarían daños a los huevos o a las primeras formas larvales, impidiendo que el ciclo continúe hacia larva infectiva, mientras que en el caso de *Bifidobacterium* DDBA el efecto larvicida se produciría principalmente sobre las L3 de *Strongyloides papillosus* con mayor vulnerabilidad por ausencia de cutícula protectora.

Palabras Clave: bacterias probióticas, nematodos gastrointestinales, inhibición, efecto ovicida, larvicida, caprinos.

## INTRODUCCIÓN

La sanidad es un aspecto fundamental en toda actividad pecuaria ya que influye en forma directa sobre los resultados productivos del rodeo, cualquiera sea el objetivo comercial. El caprino se caracteriza por ser una especie rústica, pero existe la creencia errónea que toleran enfermedades y no padecen problemas sanitarios. En realidad, la cabra necesita tantos cuidados como cualquier otro animal doméstico y en algunos aspectos, como parasitosis internas, son más susceptibles, situación que ocasiona los mayores daños económicos y pérdidas en las majadas (1, 2). Los principales géneros de parásitos internos encontrados en ganado caprino son: *Haemonchus contortus*, *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Nematodirus* spp., *Bunostomum* spp., *Strongyloides papillosus*, *Capillaria*, *Oesophagostomum* spp., *Chabertia ovina*, *Trichuris* spp. y *Skrjabinema* spp. La mayoría de los nematodos presenta un ciclo evolutivo dividido en dos fases: la fase exógena, que comienza con la eliminación de huevos del hospedador definitivo. De estos huevos emergen larvas de primer estadio (larva I), éstas mudan a larvas II y subsecuentemente a larvas III o infestantes. La fase exógena termina con la adquisición oral o percutánea de parásitos (larva III) por un nuevo hospedador. La fase endógena abarca el desarrollo ulterior hasta que el parásito llega a la madurez sexual y el tiempo que permanece en el hospedador (3).

Los desórdenes patológicos causados por parásitos gastrointestinales son variados, pero en general se caracterizan por ulceración y hemorragia de los órganos afectados, y en el caso de especies hematófagas, por gastroenteropatía proteino-deficiente. Todos estos efectos del parasitismo conllevan a mermas de parámetros productivos y contribuyen a reducir ganancias de peso, crecimiento de lana en ovinos y producción de leche (4).

El uso de drogas antihelmínticas para controlar parásitos internos del ganado ha sido la herramienta más común, y frecuentemente la única, utilizada en las últimas décadas. Después de algunos años, los pequeños rumiantes comenzaron a desarrollar resistencia a los antihelmínticos, en su gran mayoría en los países del hemisferio sur: Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica y en Sudamérica (5-8). Este serio inconveniente, sumado al objetivo de producir alimentos orgánicos sin residuos de drogas (debido a exigencia por parte de los consumidores), replanteó el uso de antiparasitarios y estimuló el desarrollo de métodos alternativos ecológicamente viables y sin riesgos para la salud humana (9).

El control biológico puede definirse como el uso de un microorganismo vivo, introducido en el ambiente, para obtener reducción de patógenos (10). Entre los métodos alternativos utilizados, se encuentra el uso de hongos nematófagos de los géneros *Duddingtonia* spp y *Arthrobotrys* spp (11-15) y también, la inyección de óxido de cobre (16).

Con respecto al control de nematodos por bacterias, los trabajos de investigación existentes son escasos. Algunos de ellos informaron actividad ovicida y larvicida de cepas de *Bacillus thuringiensis* sobre los géneros *Trichostrongylus* spp, *Cooperia* spp y *Ostertagia* spp (17-19). Otros estudios demostraron efectos de administración oral de *Lactobacillus casei* (viable, no viable y sobrenadante de cultivo) sobre la reducción de larvas adultas de *Trichinella spiralis* en intestino y en tejido muscular de ratones (20, 21).

El objetivo de este trabajo fue el estudio de inhibición in vitro de bacterias lácticas caprinas sobre diferentes géneros de nematodos gastrointestinales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de las muestras:

Las muestras de materia fecal fueron obtenidas de cabras criollas, cruce criollas x Saanen y criolla x Anglo Nubian que no habían recibido tratamiento antiparasitario, pertenecientes a establecimientos ubicados en las provincias de Tucumán y Catamarca (Argentina). Por tratarse de majadas numerosas, el muestreo comprendió el 10% de los animales. Las muestras fueron recogidas mediante tacto rectal, se colocaron en recipientes de vidrio debidamente rotulados y se conservaron a 8°C hasta su procesamiento. En el laboratorio, previo enriquecimiento según la técnica de Willis (22), se procedió al examen microscópico. Los huevos de nematodos fueron identificados con la ayuda de claves de identificación sistemática (23, 24).

### Determinación de la carga parasitaria:

Se realizó mediante el recuento de huevos por gramo de materia fecal (h.p.g.) según la técnica de Mc Master modificada (25).

### Coprocultivos:

Se realizaron coprocultivos de las muestras para obtener larvas infestantes (L3) de nematodos a partir de los huevos que se encontraban en materia fecal, cuya similitud impedía identificarlos, según la técnica de Roberts y O'Sullivan (26). La identificación microscópica de larvas infestantes obtenidas fue realizada con la ayuda de claves de identificación sistemática (23, 27).

### Ensayos de interacción bacterias – nematodos:

Todos los ensayos incluyeron cultivos bacterianos de 16 horas de incubación de cepas aisladas de heces de caprinos sanos y seleccionadas por propiedades probióticas generales: *Lactobacillus* DDL19, *Lactobacillus* DDL48 y *Bifidobacterium* DDBA (28). Cada cultivo fue centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos, lavado dos veces con solución fisiológica estéril y por último las células resuspendidas en 2 mL de la misma solución.

a) Acción larvicida: interacción bacterias – larvas infestantes:

- ◆ Se observó al microscopio el sobrenadante con larvas infestantes (L3) obtenido de coprocultivos para confirmar la ausencia de larvas muertas.
- ◆ En un tubo de ensayo estéril, se colocaron: 1 mL de cada suspensión bacteriana (107 –108 células/mL), 5 mL de medio LAPTg (29) y 2 mL del sobrenadante con L3.
- ◆ Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente (22-25°C) durante 48 horas, al cabo de las cuales se observó al microscopio la presencia de L3 muertas.

b) Interacción bacterias – larvas infestantes (I):

- ◆ Se seleccionaron y filtraron 40 L3 vivas.
- ◆ En condiciones de esterilidad, se tomó la membrana m) donde quedaron retenidas las L3 y se lavó cuidadosamente de filtración (0,22 con solución fisiológica estéril dentro de una caja de Petri estéril para recuperar las larvas.
- ◆ Se colocó dicha solución en tubos de ensayo estériles y se centrifugaron a 1500 rpm durante 3 minutos.
- ◆ Se eliminó el sobrenadante, dejándose 3 mL en cada tubo.
- ◆ Se agregaron 5 mL de medio LAPTg y 1 mL de la suspensión bacteriana conteniendo 107 –108 células/mL.
- ◆ Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente durante 48 horas, al cabo de las cuales se observó al microscopio la presencia de L3 muertas.

c) Interacción bacterias – larvas infestantes (II):

- ◆ Se seleccionaron aproximadamente 100 L3 vivas, las cuales fueron colocadas en un tubo de ensayo y se agregaron 10 mL de agua destilada. Se incubó a 8°C durante 4 horas.

- ◆ Se eliminó el sobrenadante, dejándose 5 mL del mismo en cada tubo, los cuales fueron transferidos a un tubo estéril.
  - ◆ Se agregaron 0,8 mL de una solución conteniendo 16 mg/mL de estreptomicina y 64000 UI/mL de penicilina G sódica, dejándose en reposo a temperatura ambiente durante 3 horas. (Previamente se ensayaron varias concentraciones de antibióticos a distintos tiempos, comprobándose que 0,8 mL de la solución antes indicada y al cabo de 3 horas, no había desarrollo microbiano ni alteraciones morfológicas en las L3).
  - ◆ Transcurrido este tiempo, se eliminó el sobrenadante, dejándose 3 mL del mismo.
  - ◆ En condiciones de esterilidad, se agregaron 5 mL de agua destilada estéril y se incubó a 8°C durante 4 horas, y luego se redujo el sobrenadante hasta 2 mL.
  - ◆ El paso anterior fue repetido 6 veces, con el objeto de eliminar restos del antibiótico.
  - ◆ Se agregaron al tubo 5 mL de medio LAPTg y 1 mL de cada suspensión bacteriana conteniendo 107 –108 células/mL.
  - ◆ Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente durante 48 horas, al cabo de las cuales se observó al microscopio la presencia de L3 muertas.
- d) Acción ovicida: interacción bacterias – huevos de nematodos:
- ◆ Se trabajó con muestras de materia fecal que presentaban huevos de los géneros Nematodirus spp. y Trichostrongylus spp., por ser fácilmente identificables.
  - ◆ Al microscopio, los huevos de cada género fueron aspirados individualmente y colocados en un tubo de ensayo al cual se le agregaron 2 mL de hipoclorito de sodio al 10% para esterilizarlos. Se dejó en reposo 5 minutos.
  - ◆ Se agregaron 5 mL de agua destilada estéril y se centrifugó 3 minutos a 2500 rpm.
  - ◆ Se eliminó el sobrenadante, dejándose 2 mL del mismo al cual se le agregaron 5 mL de agua destilada estéril. Se volvió a centrifugar.
  - ◆ El paso anterior fue repetido 4 veces para eliminar restos de hipoclorito de sodio.
  - ◆ Se colocaron 5 huevos de cada género en placas de Petri estériles de 5 cm de diámetro a las cuales se les agregaron 3 mL de medio LAPTg (Control).
  - ◆ Se procedió como en el punto anterior pero se agregó además 1 mL de suspensión bacteriana conteniendo 107 –108 células/mL (Tratamiento).
  - ◆ C durante 24°- Todas las cajas fueron incubadas a 28 horas.
  - ◆ Transcurrido el tiempo, se observó el desarrollo de los huevos al microscopio para evaluar alguna acción ovicida por parte de las bacterias ensayadas.
- e) Minicoprocultivos
- Se trabajó con muestras de materia fecal de diferentes grados de infestación (h.p.g.).
- ◆ Se prepararon minicoprocultivos con 3 g de materia fecal en placas de Petri de 5 cm de diámetro (coprocultivos Control), según la técnica de Roberts y O’Sullivan (26).
  - ◆ Se procedió como en el punto anterior pero con la adición de 1 mL de suspensión bacteriana conteniendo 107 – 108 células/mL (coprocultivos Tratamiento).
  - ◆ Todos los C durante 10 días. Al cabo de este°coprocultivos fueron incubados a 28 - 30 tiempo, fueron invertidos para recuperar las larvas infestantes (L3). En primer lugar se realizó el recuento de L3 muertas, luego se provocó la muerte del total de L3 por calor, realizándose así el recuento total de larvas y el cálculo del porcentaje de mortandad.
  - ◆ Se evaluaron dos parámetros (30):

$$1- \text{Índice de recuperación (I.R.)} = \frac{\text{número de L3 recuperadas}}{\text{h.p.g} \times 3}$$

$$2- \text{Porcentaje de mortandad de L3} = \frac{\text{número de L3 muertas} \times 100}{\text{número total de L3}}$$

### Análisis estadístico:

Cada uno de los ensayos fue realizado por triplicado y con 3 repeticiones, calculándose las medias y las desviaciones estándar. Los datos fueron analizados mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis, debido a la gran variabilidad y distribución anormal de los datos. Se consideró significativo un nivel de probabilidad de  $P < 0,05$ . El programa estadístico utilizado fue Minitab Statistic Program release 8.21.

## RESULTADOS

Los géneros de nematodos encontrados en las muestras de materia fecal de caprinos fueron identificados como Nematodirus spp., Ostertagia spp., Oesophagostomum spp., Cooperia spp., Trichostrongylus spp., Chabertia spp.,

Bunostomum spp., Haemonchus contortus y Strongyloides papillosus (figuras 1 y 2). Estos géneros fueron confirmados mediante su identificación a nivel de huevos y de L3.

Figura 1: Huevos de nematodos gastrointestinales de origen caprino: Bunostomum spp. (A); Cooperia spp. (B); Nematodirus spp. (C) y Strongyloides papillosus (D) (fotografías tomadas en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Nacional de Catamarca).

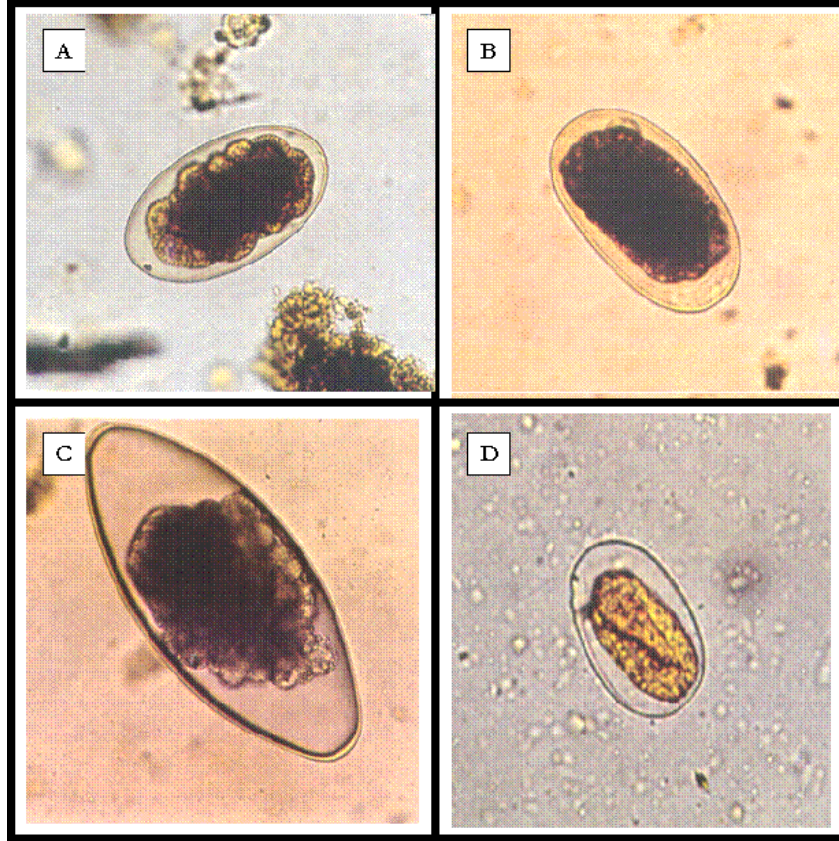
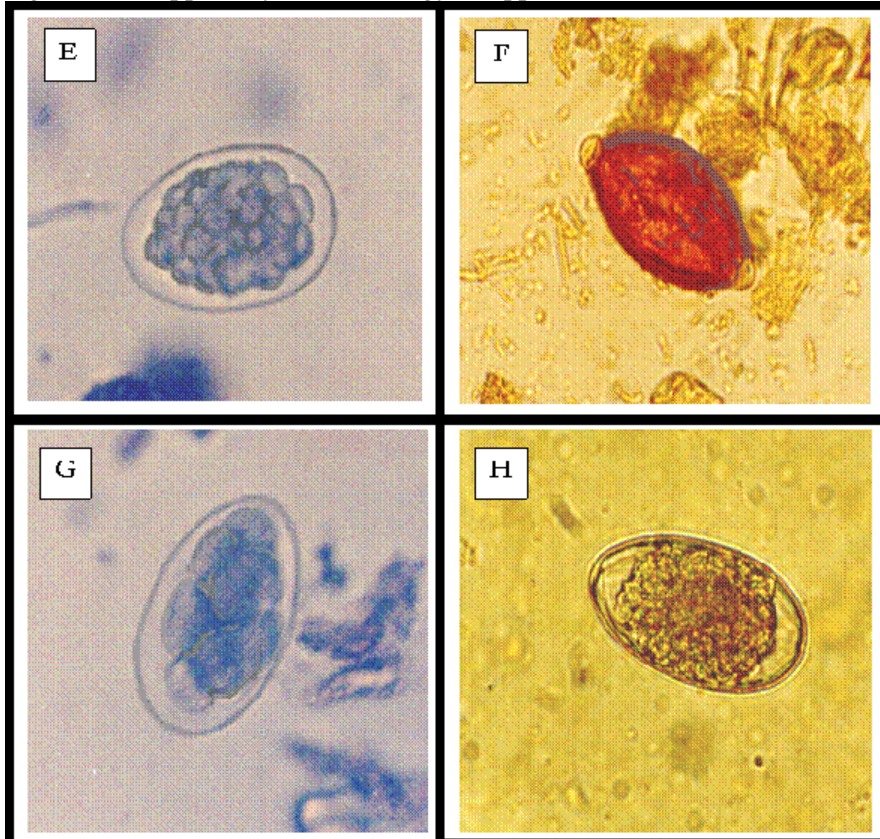


Figura 2: Huevos de nematodos gastrointestinales de origen caprino: Haemonchus contortus (E); Trichuris spp. (F); Oesophagostomum spp. (G) y Trichostrongylus spp. (H) (fotografías tomadas en nuestro laboratorio).





El recuento de huevos por gramo de materia fecal (h.p.g.) varió desde muestras moderadamente parasitadas ( $500 < \text{h.p.g.} > 1000$ ) hasta infestación leve ( $\text{h.p.g.} < 100$ ).

### Interacción bacterias - larvas infestantes

Los numerosos estudios llevados a cabo aplicando la metodología dea en los ítems a, b y c (Materiales y métodos), arrojaron resultados inválidos debido a la gran variabilidad obtenida. En el primer grupo de ensayos la falta de reproducibilidad de resultados respondió a frecuente contaminación con flora fecal. Cuando se intentó revertir la situación, con el uso de soluciones antibióticas, se incorporaron otros factores de error: la selección de un número determinado de larvas dificultaba en gran medida el trabajo y los lavados repetidos determinaban pérdida de un gran porcentaje de larvas.

### Interacción bacterias – huevos de nematodos

La metodología planteada en el ítem d (Materiales y métodos), no permitió obtener resultados concluyentes respecto a la acción ovicida de las bacterias probióticas. Los resultados obtenidos carecían de reproducibilidad ya que la técnica adolecía de los mismos problemas antes mencionados.

### Minicoprocultivos

El diseño de la técnica de minicoprocultivos permitió llevar a cabo los estudios necesarios para determinar la acción inhibitoria de las bacterias sobre los nematodos. Este efecto fue evaluado por el número de larvas infestantes (L3) recuperadas de los coprocultivos expresado como índice de recuperación (I.R.) y por el porcentaje de mortandad de L3, en comparación con los coprocultivos controles (tablas 1 y 2).

Los géneros de nematodos presentes en cada una de las muestras se detallan en la tabla 3.

Tabla 1: Índice de recuperación de larvas infestantes (L3).

h.p.g	CONTROL	DDL19	DDL4S	DDEA
30	0,40 ± 0,16	0,21 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,03 <sup>b</sup>	n.d. <sup>c</sup>
240	0,14 ± 0,04	n.d.	n.d.	0,13 ± 0,05
470	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,04	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,02
500	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01
740	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,03

<sup>a</sup>:  $P < 0,10$  - <sup>b</sup>:  $P < 0,05$  - <sup>c</sup>: no determinado.

Tabla 2: Porcentaje de mortandad de larvas infestantes (L3).

h.p.g	CONTROL	DDL19	DDL4S	DDEA
30	14,40 ± 10,10	32,20 ± 22,50	25,9 ± 15,8	n.d. <sup>a</sup>
240	11,30 ± 0,28	8,90 ± 7,50	n.d.	33,90 ± 3,30 <sup>b</sup>
470	2,50 ± 0,57	3,18 ± 2,30	2,0 ± 0,88	19,3 ± 8,90 <sup>b</sup>
500	12,80 ± 8,80	14,90 ± 6,70	17,60 ± 15,50	33,80 ± 11,10 <sup>b</sup>
740	16,80 ± 12,80	n.d.	17,90 ± 13,60	10,0 ± 2,40

<sup>a</sup>: no determinado - <sup>b</sup>:  $P < 0,01$ .

Tabla 3: Géneros de nematodos gastrointestinales presentes en las muestras utilizadas.

Muestra (h.p.g.)	Géneros identificados
80	<i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Nematodirus</i> spp.
240	<i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Chabertia</i> spp.
470	<i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Haemonchus contortus</i> , <i>Strongyloides papillosum</i>
500	<i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Nematodirus</i> spp., <i>Haemonchus contortus</i> , <i>Strongyloides papillosum</i> , <i>Ostertagia</i> spp.
740	<i>Trichostrongylus</i> spp., <i>Strongyloides papillosum</i> , <i>Haemonchus contortus</i> , <i>Oesophagostomum</i> spp.

## DISCUSIÓN

De las 6 bacterias evaluadas, solamente *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 presentaban un menor índice de recuperación estadísticamente significativo con respecto al control ( $P < 0,10$  y  $P < 0,05$ , respectivamente) (tabla 1). Este efecto era restrictivo a materia fecal con carga parasitaria baja (h.p.g. < 100), lo cual indicaba acción probiótica ovicida por parte de estas dos cepas. Los resultados de estas experiencias concuerdan con la hipótesis general referida a la actividad probiótica, la cual postula un efecto principalmente preventivo. Gusils León (31), a partir de una alimentación probiótica en pollos, estableció un efecto preventivo relacionado al desafío con cultivos de *Salmonella* spp.; sin embargo, este tipo de alimentación no mostró un efecto terapéutico. De todos los ensayos de interacción in vitro realizados, los minicoprocultivos son los que más se asemejan a las condiciones reales, ya que permite la coexistencia de bacterias con huevos y/o los primeros estadios larvales de los nematodos presentes en las heces y con otros microorganismos componentes de la flora fecal. Los efectos inhibitorios de *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 sobre nematodos pueden resultar de interacciones entre ellas y algunos microorganismos de la flora fecal, situación que no tenía lugar en aquellos ensayos donde esta última era eliminada por la acción de antibióticos.

La acción ovicida observada fue similar a la obtenida por Ciordia y Bizzel (17) quienes, al mezclar esporas de *Bacillus thuringiensis* con heces de bovinos conteniendo huevos de *Cooperia punctata*, *Cooperia oncophora* y *Ostertagia ostertagi*, obtenían un número reducido de larvas infestantes, disminución que aumentaba en relación directa con la concentración de esporas por gramo de materia fecal. Bone y col. (19) comprobaron que las lectinas vegetales de *Bandeiraea simplicifolia* y *Phytolacca americana* y las aglutininas de *Limulus polyphemus* y *Lens culinaris*, se unían a la membrana externa de huevos de *Trichostrongylus colubriformis*, cuyas afinidades respectivas indicaban que galactosa o N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, ácido siálico y manosa o glucosa, respectivamente, estarían involucradas en el fenómeno de adhesión. Según los ensayos de aglutinación de levaduras realizados en trabajos anteriores, durante la selección de las cepas probióticas para determinar actividad tipo lectina sobre la superficie celular de las bacterias (28), pudo comprobarse que las cepas *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 presentaban receptores específicos para ácido siálico, ya que el agregado de este carbohidrato a la mezcla de reacción inhibía la aglutinación. Podría postularse entonces, que las cepas nombradas se adherirían a la superficie de los huevos en una unión mediada por ácido siálico u otro receptor. Su acción inhibitoria tal vez responda a la producción de ácidos orgánicos o a la producción de otro metabolito de fermentación capaz de afectar la viabilidad de los huevos y/o los primeros estadios larvales. Como puede observarse en la tabla 3, las muestras de materia fecal donde se observaron efectos ovicidas de las cepas *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 contenían el género *Trichostrongylus* spp. Resultados similares fueron obtenidos por Bottjer y col. (18), quienes comprobaron que la toxina producida por *Bacillus thuringiensis israelensis* tenía efectos ovicidas o larvicidas de los primeros estadios, no así sobre larvas infectivas o adultas de *Trichostrongylus colubriformis* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

En referencia al porcentaje de mortandad de L3, los resultados obtenidos asignaron a la cepa *Bifidobacterium* DDBA, efectos larvicidas muy marcados, siendo el porcentaje de mortandad entre 3 a 7 veces mayor con respecto a los coprocultivos controles. Las diferencias fueron altamente significativas ( $P < 0,01$ ) pero sólo en muestras de

materia fecal con carga parasitaria leve a moderada, ya que cuando h.p.g. era  $\geq 740$ , el efecto larvicida de esta cepa no mostraba diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) (tabla 2).

Las L3 muertas identificadas correspondían en 85-90% a la especie *Strongyloides papillosus*, seguidas por los géneros *Trichostrongylus* spp. (10-15%) y *Ostertagia* spp. (5%). Sin embargo, cabe aclarar que se encontraron L3 vivas de *Strongyloides papillosus* y también de los otros dos géneros. *Strongyloides papillosus* presenta un ciclo de vida diferente al de los otros dos nematodos citados, siendo su existencia alternadamente parásita y/o libre. Ciertas formas de vida libre son sexualmente diferenciadas y bajo condiciones favorables pueden ocurrir varias generaciones de multiplicación fuera del animal. El ciclo completo de huevo a larva adulta suele completarse en sólo 14 días, y con adecuadas condiciones de calor y humedad, los huevos tardan pocas horas en liberar una larva infectiva. Las hembras parásitas, producen huevos que logran abrirse aún en la última porción del intestino delgado del animal, y así las larvas pueden aparecer en heces. Las L3 de *Strongyloides papillosus* son más sensibles que las de otros nematodos, ya que no poseen vaina o cutícula protectora (32). No se conoce muy bien la composición de esta cutícula, pero se ha comprobado que presenta una serie de capas fibrilares similares al colágeno. Debido a esta estructura, la cutícula ha sido considerada como un exoesqueleto acelular con predominio de componentes moleculares inertes.

En el caso de L3 y formas adultas de *Brugia pahangi* (nematode presente en gatos domésticos y algunos animales salvajes) se ha demostrado que la cutícula externa contiene enzimas y en algunos casos hemoglobina, y que los nutrientes son absorbidos a través de ella (33). En el caso de *Haemonchus contortus* y otros trichostrongílos de rumiantes, la composición cualitativa y cuantitativa de la cutícula varía de acuerdo a la forma larval; con similar composición de aminoácidos de proteínas cuticulares para la segunda muda de L3, mientras que las formas adultas, presentan menor cantidad de glicina y mayor número de aminoácidos básicos que las anteriores. El factor común en todos los estadios es que la cutícula está formada por proteínas, cuyo peso molecular oscila entre 39 y 100 kDa (34). La ausencia de esta vaina protectora en L3 de *Strongyloides papillosus* podría ser explicar el mayor efecto larvicida de *Bifidobacterium* DDBA sobre esta especie, en relación a *Trichostrongylus* spp. u *Ostertagia* spp. Tal vez la producción de ácidos u otras sustancias por parte de *Bifidobacterium* DDBA producía muerte de L3 de *Strongyloides papillosus*, mientras que en el caso de *Trichostrongylus* spp. u *Ostertagia* spp., la presencia de la cutícula externa aletargaba el efecto larvicida.

## CONCLUSIONES

*Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48 mostraron efecto ovicida y/o sobre los primeros estadios larvales cuando el grado de infestación era bajo (h.p.g. < 100). Este efecto se evidenció en materia fecal conteniendo dos géneros de nematodos: *Trichostrongylus* spp. y *Nematodirus* spp. Por otro lado, *Bifidobacterium* DDBA ejerció acción larvicida, con porcentaje de mortandad de L3 entre 3 y 7 veces mayor que el de los coprocultivos controles. Esta acción inhibitoria se manifestaba con diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,01$ ) en muestras con carga parasitaria  $\leq 700$  h.p.g.. Las L3 encontradas pertenecían a la especie *Strongyloides papillosus*, el resto correspondía al género *Trichostrongylus* spp. y en menor grado a *Ostertagia* spp.

La acción nematocida de estas 3 cepas potencialmente probióticas, puede deberse a la producción de ácidos orgánicos u otro metabolito. En el caso de *Lactobacillus* DDL19 y *Lactobacillus* DDL48, provocarían daños a los huevos o a las primeras formas larvales, impidiendo que el ciclo continúe hacia larva infectiva; y por ello el índice de recuperación disminuía significativamente con respecto al valor control. Por otro lado el efecto larvicida de *Bifidobacterium* DDBA se manifestaría principalmente sobre L3 de *Strongyloides papillosus* cuya mayor vulnerabilidad respondería a la ausencia de cutícula protectora.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AGRAZ GARCÍA, A. Generalidades. En: Cría y explotación de la cabra en América Latina. 1ª. Edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Hemisferio Sur. 1981: 3-6.
2. MAGGIO, AG, VICTORIA, D. Control de enfermedades. Revista SuperCampo 2000; 74: 136-140.
3. BORCHERT, A. Nematelmintos (gusanos tubulares). En: Parasitología Veterinaria (Tomo I). Zaragoza, España. Editorial Acribia, S.A. 1975: 203-417.
4. SOULSBY, E.J.L. Nematodos. En: Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª. Edición. D.F., México. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. 1987: 139-141.
5. EDDI, C, CARACOSTANTOLOGO, J, PEÑA, M, SHAPIRO, J, MARANGUNICH, L, WALLER, PJ, HANSEN, JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites in sheep in southern Latin America : Argentina. Vet. Parasitol. 1996; 62 : 189-197.
6. WALLER, P, ECHEVARRIA, F, EDDI, C, MACIEL, S, NARI, A, HANSEN, JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: general overview. Vet. Parasitol. 1996; 62: 181-187.
7. HENNESSY, D. Physiology, pharmacology and parasitology. Int. J. Parasitol. 1997; 27 : 145-152.

8. FIEL, CA, SAUMELL, CA, STEFFAN, PE, RODRIGUEZ, EM, SALABERRY, G.. Resistencia de los nematodos trichostrongylídeos – Cooperia y Trichostrongylus colubriformis – a tratamientos con avermectinas en bovinos de la Pampa Húmeda, Argentina. Rev. Med. Vet. 2000; 81 : 310-315.
9. SAUMELL, CA. Conferencia: “Métodos no químicos para el control de helmintos en veterinaria”. 2000. III Congreso Argentino de Parasitología, Mar del Plata, Argentina.
10. THAMSBORG, SM, ROEPSTORFF, A, LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. Vet. Parasitol. 1999; 84: 169-186.
11. WALLER, PJ, FAEDO, M. The prospects for biological control of the free-living stages of nematode parasites of livestock. Int. J. Parasitol. 1996; 26: 915-925.
12. GITHIGIA, SM, THAMSBORG, SM, LARSEN, M, KYVSGAARD, NC, NANSEN, P. The preventive effect of the fungus Duddingtonia flagrans on trichostrongyle infections of lambs on pasture. Int. J. Parasitol. 1997; 27 : 931-939.
13. LARSEN, M., NANSEN, P., GRØNVOLD, J., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S.A. 1997. Biological control of gastro-intestinal nematode – facts, future or fiction ?. Vet. Parasitol. 72 : 479-492.
14. MANUELI, PR, WALLER, PJ, FAEDO, M, MAHOMMED, F. Biological control of nematode parasites of livestock in Fiji: screening of fresh dung of small ruminants for the presence of nematophagous fungi. Vet. Parasitol. 1999 ; 81 : 39-45.
15. PARAUD, C, CHARTIER, C. Biological control of infective larvae of a gastro-intestinal nematode (*Teladorsagia circumcincta*) and a small lungworm (*Muellerius capillaris*) by *Duddingtonia flagrans* in goat faeces. Parasitol. Res. 2003; 89(2): 102-106.
16. CHARTIER, C, ETTER, E, HOSTE, H, PORS, I, KOCH, C, DELLAC, B. Efficacy of copper oxide needles for the control of nematode parasites in dairy goats. Vet. Res. Comm. 2000; 24: 389-399.
17. CIORDIA, H, BIZZELL, WE. A preliminary report on the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the development of the free-living stages of some cattle nematodes. J. Parasitol. 47 1961; (abstract): 41.
18. BOTTJER, KP, BONE, LW, GILL, SS. Nematoda: susceptibility of the egg to *Bacillus thuringiensis* toxins. Exp. Parasitol. 1985; 60: 239-244.
19. BONE, LW, BOTTJER, KP, GILL, SS. *Trichostrongylus colubriformis*: egg lethality due to *Bacillus thuringiensis* crystal toxin. Exp. Parasitol. 1985; 60: 314-322.
20. BAUTISTA-GARFIAS, CR, IXTA, O, ORDUÑA, M, MARTINEZ, F, AGUILAR, B, CORTES, A. Enhancement of resistance in mice treated with *Lactobacillus casei*: Effect on *Trichinella spiralis* infection. Vet. Parasitol. 1999; 80: 251-260.
21. BAUTISTA-GARFIAS, CR, IXTA-RODRIGUEZ, O, MARTINEZ-GOMEZ, F, LOPEZ, MG, AGUILAR-FIGUEROA, BR. Effect of viable or dead *Lactobacillus casei* organisms administered orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis* infection. Parasite 2001; 8: S226-S228.
22. WILLIS, HH. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. Med. J. Austr. 1921; 8: 375.
23. UENO, H, GUTIERRES, VC. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 1970. Universidad Autónoma de Santo Domingo, República Dominicana.
24. THIENPONT, D, ROCHETTE, F, VANPARIJS, OFJ. Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico. Beerse, Bélgica. 2ª edición. 1986. Janssen Research Foundation.
25. RAYNAUD, JP. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le controle des infestations parasitaires des bovins, ovins, equins et porcins. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1970 ; 45: 321-342.
26. ROBERTS, FHS, O'SULLIVAN, JP. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. Aust. Agric. Res. 1950 ; 1:99.
27. NIEC, R. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. 1968. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina.
28. DRAKSLER, D. Alimentos probióticos para ganado caprino. Tesis Doctoral. 2003. Universidad Nacional de Tucumán. Argentina.
29. RAIBAUD, P, CAULET, M, GALPIN, JV, MOCQUOT, G. Studies of the bacterial flora of the alimentary tract of pigs. II. Streptococci: selective enumeration and differentiation of the dominant group. Appl. Bacteriol. 1961 ; 24: 285-291.
30. DRAKSLER D, MONFERRAN, MC, GONZÁLEZ, S. Interactions between acid lactic bacteria and gastrointestinal nematode of caprine origin. En: Public Health Microbiology: Methods and Protocols. JFT Spencer y AL Ragout de Spencer (eds). Totowa, New Jersey. USA. Humana Press. 2004: 207-211.
31. GUSILS LEON, CH. Cepas probióticas de pollo: su adhesión a epitelios huésped específico. Tesis Doctoral. 2000. Universidad Nacional de Tucumán. Argentina.
32. SOULSBY, E.J.L. Nematodes of the Gastro-intestinal Tract. En: Textbook of Veterinary Clinical Parasitology. (Vol. I). Helminths. Oxford, Great Britain. Blackwell Scientific Publications. 1965: 281- 471.
33. PHILIPP, M, PARKHOUSE, RM, OGILVIE, BM. Changing proteins on the surface of a parasitic nematode. Nature 1980; 287 (5782): 538-540.
34. FETTERER, RH. The cuticular proteins from free-living and parasitic stages of *Haemonchus contortus*. I. Isolation and partial characterization. Comp. Biochem. Physiol. B. 1989; 94(2): 383-388.

Volver a: [Enfermedades de los caprinos](#)