

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE VETERINARIA DE LUGO



**“ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS
INFECCIONES QUE AFECTAN AL APARATO
RESPIRATORIO Y GASTROINTESTINAL DE LOS
CORZOS EN GALICIA”**

Memoria presentada por el Licenciado en
Veterinaria **D. Francisco Javier Pato
Rivero** para optar al grado de Doctor.

Lugo, septiembre de 2011



UNIVERSIDADE DE
SANTIAGO DE COMPOSTELA

Departamento de Patoloxía Animal
Facultad de Veterinaria
Campus Universitario, s/n.
27002 LUGO (España)
Tfno. 982 252 231 – 982 223 996
Fax 982 252 195

DÑA. PATROCINIO MORRONDO PELAYO, Catedrática del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

D. GONZALO FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, Profesor Titular del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

DÑA. ROSARIO PANADERO FONTÁN, Profesora Titular del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

D. PABLO DÍAZ FERNÁNDEZ, Profesor Ayudante Doctor del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMAN:

Que la Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES QUE AFECTAN AL APARATO RESPIRATORIO Y GASTROINTESTINAL DE LOS CORZOS EN GALICIA”**, que presenta D. FRANCISCO JAVIER PATO RIVERO para optar al Título de Doctor en Veterinaria, ha sido realizada bajo la dirección conjunta de los abajo firmantes, y en su opinión, reúne las condiciones legales precisas.

Y para que conste a los efectos oportunos, firman en Lugo, a 14 de septiembre de 2011.

Patrocinio Morrondo

Gonzalo Fernández

Rosario Panadero

Pablo Díaz

Financiación:

Este trabajo se ha realizado gracias a la concesión de los proyectos de investigación:

Análisis de la intervención de rumiantes silvestres como reservorios de trematodosis y nematodosis parasitarias de ganado vacuno en extensivo. (FAU2006-00006-00-00). Ministerio de Educación y Ciencia. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (2007-2009). Investigador principal: M^a Patrocinio Morrondo Pelayo.

Estudio de los principales endoparásitos del corzo (*Capreolus capreolus*) en Galicia: repercusiones sobre la calidad del trofeo e implicaciones socioeconómicas para las zonas de explotación cinegética en el medio rural. (Ref. 07MRU034261PR). Consejería de Innovación e Industria. Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación da Xunta de Galicia. (2007-2009). Investigador principal: M^a Patrocinio Morrondo Pelayo.

Así como de los contratos de investigación con entidades públicas:

“Estudos do estado sanitario en corzos da Reserva nacional de Os Ancares e dos cervos de A Fragavella”. Consellería de Medio Ambiente. Delegación provincial de Lugo. Servizo de Conservación da Natureza da Xunta de Galicia. (2007). Investigador responsable: M^a Patrocinio Morrondo Pelayo.

“Estudo sobre a influencia da aparición de parásitos novos no incremento da taxa de mortalidade dos corzos por predación na comunidade galega” Consellería do Medio Rural da Xunta de Galicia. (2009). Investigador responsable: M^a Patrocinio Morrondo Pelayo.

PUBLICACIONES

Parte de los resultados obtenidos en el desarrollo de esta Tesis han dado lugar a las siguientes publicaciones:

A.- Artículos de investigación:

1.- **PATO, F.J.**; VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DIAZ, P.; URIARTE, J.; DIEZ-BAÑOS, N.; DACAL, V.; LOPEZ, C.; PANADERO, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 a). Especies de nematodos gastrointestinales compartidas por corzos (*Capreolus capreolus*) y ganado vacuno en pastoreo en Galicia. **Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Tomo 1: 176-178.**

2.- VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; **PATO, F.J.**; DIAZ, P.; FERNÁNDEZ, G.; SUAREZ, J.L.; MOCHALES, E.; CORTIÑAS, F.J.; FRANCISCO, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 a). Influencia de la dieta sobre la parasitación por nematodos gastrointestinales en corzos (*Capreolus capreolus*) de Galicia. **Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Tomo 1: 173-175.**

3.- VÁZQUEZ, L.; DACAL, V.; **PATO, F.J.**; PAZ-SILVA, A.; DIEZ-BAÑOS, N.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 b). The occurrence of endoparasites of roe deer (*Capreolus capreolus*) in two different areas from NW Spain. **Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología, 68 (1): 25-3.**

4.- **PATO, F.J.**; DACAL, V.; VAZQUEZ, L.; CIENFUEGOS, S.; PAINCEIRA, A.; CORTIÑAS, F.J.; FRANCISCO, I.; LÓPEZ, C.; DIEZ-BAÑOS, P.; FERNÁNDEZ, G.; MORRONDO, P. (2009 b). Análisis de las infecciones por nematodos pulmonares y *Mycobacterium bovis* en corzos (*Capreolus capreolus*) de Galicia. **Acta Parasitológica Portuguesa, 16 (1-2): 24-25.**

5.- **PATO, F.J.**; VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; LAGO, N.; MORRONDO, P.; FERNÁNDEZ, G. (2010). Prevalencia de brucelosis, tuberculosis y paratuberculosis en corzos cazados en Galicia (N.O. de España) en 2007-2008. **Galemys, 22: 295-308.**

6.- DACAL, V.; VAZQUEZ, L.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S.; PANADERO, R.; LÓPEZ, C.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2010). Cambios en la capacidad pulmonar de corzos (*Capreolus capreolus*) del Noroeste de España infectados por nematodos broncopulmonares. **Galemys**, **22**: 233-242.

7.- VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; PATO, F.J.; PANADERO, R.; LÓPEZ, C.; DÍAZ, P.; ARIAS, M.S.; FRANCISCO, I.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO P. (2010). Long-term study of internal parasitic infections in free-ranging roe deer (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. **Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología**, **69** (2): 172-174.

B.- Comunicaciones a Congresos:

1.- MORRONDO, P.; VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S; DIAZ, P.; LOPEZ, C.; PANADERO, R.; DIEZ-BAÑOS, P. (2009). Comparative study of parasitic infections in roe deer (*Capreolus capreolus*) hunted in last decade in Galicia (NW Spain). **XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Perugia, Italia, 27-30 May 2009: 59-60.

2.- PATO, F.J.; VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, S.; CIENFUEGOS, S; DIAZ, P.; DACAL, V.; DIEZ-BAÑOS, N.; FERNANDEZ, G.; MORRONDO, P. (2009 c). Gastrointestinal infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Galicia (NW Spain). **XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Perugia, Italia, 27-30 May 2009: 76.

3.- DIAZ, P.; LOPEZ, C.; VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S; PANADERO, R.; SANCHEZ-ANDRADE, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009). Gastrointestinal nematodes in domestic and wild ruminants sharing pastures in Galicia (NW Spain). **XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Perugia, Italia, 27-30 May 2009: 78.

4.- VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; **PATO, F.J.**; PAZ, A.; SANCHEZ-ANDRADE, R.; ARIAS, M.S.; FRANCISCO, I.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 c). Occurrence of endoparasites in roe deer (*Capreolus capreolus*) in NW Spain: influence of age. **XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Perugia, Italia, 27-30 May 2009: 95-96.

5.- DIEZ-BAÑOS, P.; **PATO, F.J.**; VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; DIAZ, P.; FRANCISCO, I.; DIEZ-BAÑOS, N.; MORRONDO, P. (2010). Influence of age on gastrointestinal nematode parasitation in roe deer (*Capreolus capreolus*) hunted in N.W. of Spain. **XVIII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Durres, Albania, 26-29 May 2010: 79.

6.- MORRONDO, P.; VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; **PATO, F.J.**; ARIAS, M.S.; SUÁREZ, J.; CIENFUEGOS, S.; URIARTE, J.; DIEZ-BAÑOS, P. (2010). Study of prevalence and intensity of infection by endoparasites in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Galicia (NW Spain). **XVIII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM)**. Durres, Albania, 26-29 May 2010: 84.

7.- **PATO, F.J.**, DÍEZ BAÑOS, N.; VÁZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; LÓPEZ, C.; PAZ, A.; FERNÁNDEZ, G.; DÍAZ, P.; MORRONDO, P. (2011 a). Gastrointestinal nematode species in roe deer from Galicia. **XII Congreso Ibérico de Parasitología**. Zaragoza, 5-8 Julio 2011: 215.

8.- **PATO, F.J.**, VÁZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PANADERO, R.; DÍEZ BAÑOS, P.; FERNÁNDEZ, G.; DÍAZ, P.; MORRONDO, P. (2011 b). Nematodes from roe in North-Western Spain: Prevalence and infection intensity depending of their localization in the gastrointestinal tract. **XII Congreso Ibérico de Parasitología**. Zaragoza, 5-8 Julio 2011: 216.

AGRADECIMIENTOS:

Quiero expresar mi más sincera gratitud a todas aquellas personas que de forma directa o indirecta han contribuido a la realización del presente trabajo y de manera especial:

A mis directores, que han sido mucho más que eso, apoyándome en todo lo que he necesitado. A la Profa. Dra. M^a Patrocinio Morrondo Pelayo por su confianza y paciencia (mayor que la mía y sobre todo en los últimos meses), su gran experiencia en estas lides y por su contribución y preocupación para mi formación en el campo de las Enfermedades Parasitarias, al Prof. Dr. Gonzalo Fernández Rodríguez por facilitarme la introducción en el “maravilloso” mundo de la investigación, por sus conocimientos de las Enfermedades Infecciosas adquiridos en esta tesis y en esas reuniones “semanales” y por sus ánimos ante ciertos resultados (o ausencia de los mismos), a la Profa. Dra. Rosario Panadero Fontán por su tiempo y buena disposición siempre y sus experiencias en el campo de la Parasitología y el difícil campo laboratorial y al Prof. Dr. Pablo Díaz Fernández por su ayuda que ha sido indispensable en general y en la estadística en particular, así como por el apoyo y motivación en los momentos más difíciles sin olvidar los ratos de despacho y café.

Al Prof. Dr. Pablo Díez-Baños por sus conocimientos y experiencia en el Departamento y en los congresos, por facilitarme todos los medios necesarios del laboratorio de Parasitología y Enfermedades Parasitarias; sin olvidar los relacionados con la bibliografía indispensables para poder desarrollar éste y cualquier otro estudio.

Al Prof. Dr. Ceferino Manuel López Sáñez por sus conocimientos informáticos y estadísticos, por su disposición a echar una mano siempre y por los increíbles momentos cafeteros.

A la Profa. Dra. Rita Sánchez-Andrade, al Prof. Dr. Adolfo Paz Silva y al Dr. José Luis Suárez por su ayuda, compañerismo y por los ratos compartidos a lo largo de estos años.

A los Dres. Vicente Dacal y Luis Vázquez que en estos cuatro años lo han sido todo: compañeros, tutores, consejeros y un largo etc., pero sobre todo han sido unos excelentes amigos. Me han demostrado que la amistad, la cooperación y sobre todo el respeto y el compañerismo tienen que ir de la mano para conformar un equipo y así

llegar a la meta de manera más fácil y con gran satisfacción. Gracias a los dos por su ayuda y tiempo, indispensables para mí.

A la Dra. María Sol Arias por su compañerismo y humor y por los buenos ratos en el Departamento durante todo este tiempo.

A Sandra, tan pequeña y tan grande a la vez. Compañera en los difíciles inicios de la “pesca” e identificación que se ha convertido en una gran amiga. Sin su alegría y sus peculiares historias esos ratos de laboratorio y fuera del mismo no serían los mismos. Gracias por todo.

A los compañeros de Enfermedades Infecciosas: Noelia y Alberto. Por los momentos compartidos a lo largo de estos años en los muchos y duros muestreos ovinos y algo menos de vacuno, de laboratorio, cafés, reuniones “semanales” y un largo etc. Todos ellos siempre con su parte divertida. Gracias a los dos por su ayuda, disposición y compañerismo siempre que los he necesitado.

A las compañeras de Enfermedades Parasitarias: Ana, Silvia e Isa. Con las que he coincidido ya bastante menos en el laboratorio en mi última etapa, pero con las que he pasado ratos muy divertidos y entrañables en el seminario. Gracias por vuestra alegría y sobre todo por disfrutar con mi característico humor .

A los veterinarios de ACIVO: Miguel, Ana y Yolanda con los que compartí mis últimas experiencias como estudiante de veterinaria y primeras como veterinario durante los múltiples y duros muestreos de ovinos para el Maedi-Visna, aunque con anécdotas muy divertidas, que también considero una pequeña parte de mí.

A los demás compañeros del Departamento: Cristiana, Silvia Valverde, Dr. Iván y Pablo Piñeiro a los que también pasaron por aquí: Dr. Pedreira, Sara, Noelia Mourazos, Javi Cortiñas, Rubén, María... y a los que vendrán. A todos gracias por su simpatía, compañerismo y por los numerosos y divertidos ratos de laboratorio.

A Elena, por su paciencia y ayuda para resolver todos esos papeleos y problemillas que iban surgiendo a lo largo de este tiempo.

Al Departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de León, muy especialmente a la Profa. Dra. Natividad Díez-Baños por su inestimable ayuda, consejos, paciencia y disponibilidad en todo momento a lo largo de estos años sin los que hubiese sido muy complicado el estudio de los nematodos gastrointestinales. Del mismo modo a la becaria Angélica Martínez Delgado por su ayuda, por los momentos de su estancia lucense y por su de tiempo para resolver cualquier duda sobre la identificación de los mismos que me surgiera.

A los que serán siempre mis “imperecederos” y geniales compañeros de piso y amigos del “triángulo máximo”: Roberto y Benito. A Beni colega de licenciatura, aunque de otra promoción, del que puedo afirmar con contundencia que ha sido, es y será siempre mi mejor amigo. Pues si la amistad engloba cosas como preocupación, apoyo incondicional, comprensión, complicidad, afecto, compartir experiencias (triumfos y derrotas) y un largo etc. él representa para mí eso y muchísimo más. Gracias por todo, es un honor y un placer poder decir que te tengo como amigo y estoy seguro de que me “permitirás” seguir disfrutando de tu amistad el resto de nuestras vidas. A Rober al que conozco desde mi primer año en Lugo y con el que he compartido múltiples experiencias y anécdotas durante esta maravillosa década en Lugo, no en la Facultad pero sí en la residencia y durante todos estos años en la convivencia doméstica en la que (creo) hemos rozado la perfección. Gracias por tu amistad, por tus ánimos y toques de atención en mis peores momentos que aunque duros, a veces, siempre valoraré y recordaré con cariño. Del mismo modo a Clara, que con el tiempo se ha convertido en una muy buena amiga con la que también he compartido momentos muy divertidos y que ha tenido conmigo detalles que nunca olvidaré. A todos gracias por estar ahí siempre, por vuestro apoyo y sobre todo por vuestra paciencia para aguantarme a mi en mi día a día, fueran estos más o menos “espesos”, pienso que de todas maneras habéis disfrutado “un poquito” conmigo.

Al pronto Dr. Antón, compañero únicamente durante mi primer año en Lugo pero que con el tiempo se ha convertido en un muy buen amigo. Gracias por tu amistad, por tus ánimos constantes y por saberme escuchar. Estoy seguro de que te esperan muchos éxitos en el campo de la Biología y la docencia que llegará algún día.

A mis amigos de Ourense, especialmente a Luis, Hugo, Berni y Miguel Ángel. Por todos los años vividos y por vuestra amistad que tengo en muy alta estima y que espero y estoy seguro de que seguiremos compartiendo a lo largo de nuestras vidas.

Al resto de compañeros y amigos de diversas procedencias que he conocido a lo largo de estos maravillosos años de Facultad y Departamento en Lugo: Ignacio, Cristina, Marilen, César, Nacho, Marco, Ángel, Borja, Emmanuel, Arantxa, Paula, Marian, Pier, Cinzia y un largo etc. Gracias por todos los grandes e inolvidables momentos que compartí con vosotros y por teneros siempre conmigo aunque nuestras vidas vayan por distintos caminos.

A todos y cada uno de los cazadores que han colaborado en la aportación de las muestras y cuyo trabajo fue indispensable para la realización de esta memoria y todo lo relacionado con los corzos.

Y ya por último de manera muy especial dedicarle este trabajo a mi familia, que considero lo más importante de mi existencia. Principalmente a mis padres por ser los “directores” de mi vida con la dificultad que conlleva. No solo por compartir y disfrutar con mis logros o vivencias sino también, lo más difícil, por apoyarme en todo momento y animarme siempre en los peores ratos, sobre todo en este último año. Gracias a los dos por vuestro cariño incondicional y vuestros sacrificios y esfuerzos que no han sido pocos. A Leti, mi hermana por todo su apoyo, cariño y optimismo. Aunque sea la pequeña con ella he aprendido mucho de la vida y no podría tener una hermana mejor. Gracias por todos los momentos compartidos y por poder contar contigo siempre. Por último, a mis abuelos que han sido para mi unos segundos padres excelentes y a los que tengo un cariño muy especial.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1. El corzo	9
2.1.1. Biología.....	10
2.1.2. Distribución	13
2.2. Agentes parasitarios	19
2.2.1. Nematodos broncopulmonares de los rumiantes.....	19
2.2.1.1. Etiología.....	19
2.2.1.1.1. <i>Familia Dictyocaulidae</i>	19
Género <i>Dictyocaulus</i>	19
2.2.1.1.2. <i>Familia Protostrongylidae</i>	24
Género <i>Protostrongylus</i>	24
Género <i>Spiculocaulus</i>	32
Género <i>Muellerius</i>	37
Género <i>Cystocaulus</i>	39
Género <i>Neostongylus</i>	40
Género <i>Varestrongylus</i>	41
2.2.1.2. Ciclo biológico.....	44
2.2.1.3. Epidemiología	47
2.2.1.4. Manifestaciones Clínicas	51
2.2.1.5. Diagnóstico	55
2.2.1.6. Prevalencia de nematodos broncopulmonares en corzo	58
2.2.2. Nematodos gastrointestinales de los rumiantes	63
2.2.2.1. Etiología.....	63
2.2.2.1.1. <i>Familia Trichostrongylidae</i>	65
Género <i>Ostertagia</i>	65
Género <i>Teladorsagia</i>	72
Género <i>Spiculopteragia</i>	74
Género <i>Trichostrongylus</i>	80
Género <i>Cooperia</i>	85

Género <i>Marshallagia</i>	90
Género <i>Haemonchus</i>	92
2.2.2.1.2. Familia <i>Molineidae</i>	94
Género <i>Nematodirus</i>	94
2.2.2.1.3. Familia <i>Ancylostomatidae</i>	102
Género <i>Bunostomum</i>	102
2.2.2.1.4. Familia <i>Capillaridae</i>	104
Género <i>Capillaria</i>	104
2.2.2.1.5. Familia <i>Trichuridae</i>	106
Género <i>Trichuris</i>	106
2.2.2.1.6. Familia <i>Chabertidae</i>	111
Género <i>Oesophagostomum</i>	111
Género <i>Chabertia</i>	116
2.2.2.2. Ciclo Biológico	118
2.2.2.3. Epidemiología	121
2.2.2.4. Manifestaciones Clínicas	130
2.2.2.5. Diagnóstico	135
2.2.2.6. Prevalencia de nematodos gastrointestinales en corzo.....	141
2.3. Agentes infecciosos	149
2.3.1. Tuberculosis de los rumiantes	149
2.3.1.1. Etiología.....	149
2.3.1.2. Epidemiología	151
2.3.1.3. Manifestaciones Clínicas	153
2.3.1.4. Diagnóstico	154
2.3.1.5. Prevalencia de <i>Mycobacterium bovis</i> en corzo.....	161
2.3.2. Paratuberculosis de los rumiantes	161
2.3.2.1. Etiología.....	161
2.3.2.2. Epidemiología	162
2.3.2.3. Manifestaciones Clínicas	164
2.3.2.4. Diagnóstico	165
2.3.2.5. Prevalencia de <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> en corzo ..	169
2.3.3. Pestivirus de los rumiantes	173
2.3.3.1. Etiología.....	173
2.3.3.2. Epidemiología	175

2.3.3.3. Manifestaciones Clínicas	176
2.3.3.4. Diagnóstico	181
2.3.3.5. Prevalencia de pestivirus en el corzo	185
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	193
3.1. Animales	193
3.2. Zona de estudio	195
3.3. Técnicas de diagnóstico	199
3.3.1. Agentes parasitarios	199
3.3.1.1. Obtención e identificación de nematodos broncopulmonares	199
3.3.1.2. Obtención e identificación de nematodos gastrointestinales.	201
3.3.2. Agentes infecciosos	204
3.3.2.1. Estudio de <i>Mycobacterium bovis</i>	204
3.3.2.2. Estudio de <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>	208
3.3.2.3. Seroprevalencia de pestivirus.....	211
3.4. Análisis estadístico	214
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	219
4.1. Agentes parasitarios	219
4.1.1. Prevalencia e intensidad de infección por nematodos broncopulmonares.	219
4.1.1.1. Según su localización en el aparato respiratorio.	219
4.1.1.1.1. En tráquea y bronquios.....	221
4.1.1.1.2. En parénquima pulmonar.....	222
4.1.1.1.3. Distribución de las especies en los distintos tramos del tracto respiratorio.....	224
4.1.1.2. Al considerar la zona de procedencia de los corzos.....	226
4.1.1.3. Al tener en cuenta la edad de los animales	228
4.1.1.4. Según el sexo de los corzos.....	230
4.1.2. Prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales	232
4.1.2.1. Según su localización en el aparato digestivo	232
4.1.2.1.1. En abomaso.....	240
4.1.2.1.2. En intestino delgado	253

4.1.2.1.3. <i>En intestino grueso</i>	260
4.1.2.1.4. <i>En ciego</i>	266
4.1.2.1.5. <i>Distribución de las especies en los distintos tramos del tracto gastrointestinal</i>	269
4.1.2.2. Al considerar la zona de procedencia de los corzos.....	271
4.1.2.3. Al tener en cuenta la edad de los corzos.....	275
4.1.2.4. Según el sexo de los corzos.....	277
4.2. Agentes infecciosos	279
4.2.1. Prevalencia de infección por <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>	279
4.2.2. Prevalencia de infección por <i>Mycobacterium bovis</i>	281
4.2.3. Prevalencia de infección por pestivirus	283
5. CONCLUSIONES	289
6. RESUMEN	295
7. BIBLIOGRAFÍA	307

1. INTRODUCCIÓN

El corzo (*Capreolus capreolus*, Linnaeus, 1758) es el más pequeño de los cérvidos europeos. Este ungulado silvestre se caracteriza por presentar una pequeña y rudimentaria cola rodeada por un escudo anal blanco con pelo erizable que diferencia a ambos sexos. Además, los machos tienen las cuernas pequeñas, rugosas y con tres puntas como máximo. En verano, la capa es generalmente de color pardo-rojizo y en otoño presentan un pelaje más denso y largo, que se torna de color grisáceo durante el invierno. No obstante, en los corzos del norte de España no se aprecia una diferencia notable entre el pelaje de verano y el de invierno.

El aprovechamiento agroforestal del entorno en el que vive el corzo influye mucho en su distribución, siendo escasa su presencia en zonas con monocultivos arbóreos y/o arbustivos, así como en regiones con una importante cabaña de ganado caprino que compite directamente con el corzo, puesto que ambos aprovechan hojas y ramas de forma parecida.

Por el contrario, el corzo tiene preferencia por zonas forestales, con gran densidad de sotobosque que le sirve para ocultarse, y con claros intercalados, de forma que, en general, se consideran hábitats adecuados para este animal aquellos en los que hay un 5-15% de zonas abiertas sobre la superficie forestal total (Papageorgiou, 1978). Además, este rumiante silvestre prefiere los bosques caducifolios a las coníferas, de modo que en la Cordillera Cantábrica se encuentra sobre todo en zonas de hayedos y robledales; estos últimos abundan en Galicia y se les denomina “carballeiras”, localizándose entre los 1.000 y 1.400 metros de altura y coexistiendo con otra vegetación entre la que se encuentran el serbal, arándano, retama, zarza, avellano y castaño; la mayoría de estos árboles y/o arbustos dan frutos en otoño, de los que se alimenta el corzo.

En Galicia, el abandono progresivo de las tierras de cultivo ha propiciado que, en la actualidad, en gran parte de esta Comunidad se observe un mosaico de parcelas de cultivo y extensiones medias o pequeñas de monte que constituyen el medio ideal para el corzo, debido a la diversidad de recursos

vegetales a su disposición, por lo que su número se ha incrementado considerablemente en las últimas décadas; no obstante, existen grandes diferencias territoriales, siendo Lugo la provincia española en la que se abaten mayor número de corzos y en la que se estima que existen más de 22.500 animales, por lo que en la temporada 2007/2008, se permitió cazar alrededor de 4.500 ejemplares.

Debido al notable interés cinegético que tiene el corzo en Galicia, las diferentes administraciones públicas y los particulares que gestionan los TECORES (Terrenos Cinegéticamente Ordenados) están realizando importantes esfuerzos e inversiones para incrementar el número de cazadores que acuden desde otras partes de España y de Europa, y de esta forma conseguir una fuente de ingresos que contribuya a mejorar las condiciones del medio rural gallego. Además, el fomento de la caza del corzo permite alcanzar uno de los principales objetivos de la política diseñada por la Unión Europea para el desarrollo rural, es decir, diversificar el sistema productivo económico a través de la creación de actividades complementarias al sistema tradicional ganadero; éste aspecto adquiere una singular importancia en Galicia debido a dos factores relevantes: la menor competitividad de la actividad agro-ganadera y el progresivo abandono de las explotaciones, especialmente en las zonas de montaña.

El interés por conocer cada vez mejor las enfermedades que afectan a la fauna silvestre en libertad es un hecho que ha ido evolucionando a lo largo de los años, prácticamente, en todo el mundo. En un principio, este interés se centraba casi exclusivamente en el estudio de la transmisión de las enfermedades de los animales silvestres al hombre (zoonosis) pero, actualmente, también ha adquirido una notable importancia conocer el estado sanitario de la propia fauna silvestre.

En nuestro laboratorio, desde hace más de dos décadas, se han realizado diferentes estudios sobre infecciones de etiología parasitaria que afectan a los corzos en Galicia y que han puesto de manifiesto que existen elevadas prevalencia de infección por protozoos del género *Sarcocystis* (López

et al., 2003; Pérez Creo *et al.*, 2011 a, b), coccidios eiméridos (Morrondo *et al.*, 2008; Díaz *et al.*, 2009 a), nematodos broncopulmonares (Carrillo *et al.*, 1994, 1995; Panadero *et al.*, 2001; Morrondo *et al.*, 2009; Vázquez *et al.*, 2009 b), nematodos gastrointestinales (Díez-Baños *et al.*, 1995; Díez-Baños, 1996) y ectoparásitos (Vázquez *et al.*, 2009 c, 2010). En la actualidad, además de continuar con estas investigaciones para profundizar en el mejor conocimiento de la parasitofauna que afecta a los corzos, se están realizando otros trabajos con el fin de establecer la posible intervención de estos rumiantes silvestres en la transmisión de algunas enfermedades parasitarias e infecciosas al ganado vacuno y ovino, explotado en régimen extensivo o semi-extensivo en Galicia (Morrondo *et al.*, 2008; Díaz *et al.*, 2009 b, 2010; Pérez, 2010).

La tuberculosis, paratuberculosis y los pestivirus son las principales enfermedades de etiología infecciosa que afectan al aparato respiratorio y digestivo de los corzos. Es conocido que los hospedadores habituales son, principalmente, el ganado vacuno, caprino y ovino, junto con los camélidos y los cérvidos. A pesar de que son escasos los estudios sobre el grado de implicación de los corzos en la transmisión de estos agentes a los rumiantes domésticos; es importante subrayar que, como sucede en Galicia, cuando el corzo comparte pastos y praderas con el ganado doméstico, es posible el intercambio de ciertas especies parásitas y de algunos agentes infecciosos. En consecuencia, el conocer si el corzo está infectado por las mismas especies patógenas contribuirá al control de estas infecciones en este rumiante silvestre y en los domésticos. Además, hay que tener en cuenta que, en la última década, la fauna silvestre ha participado en diversas emergencias sanitarias en la Unión Europea, como la Lengua Azul o la Influenza Aviar, lo que pone de manifiesto la importancia que tiene en la actualidad y en el futuro el control sanitario de los animales silvestres; en consecuencia, los países que desarrollen esquemas de vigilancia sanitaria adecuados de las poblaciones silvestres, detectarán más rápidamente la aparición de nuevas infecciones y podrán adoptar las medidas oportunas para su control, tanto en los animales silvestres como en los domésticos.

Por ello, en este trabajo nos propusimos avanzar en el estudio de las infecciones parasitarias ocasionadas por nematodos broncopulmonares y gastrointestinales de los corzos y, además, determinar la prevalencia de infección por *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium paratuberculosis* y pestivirus que son los principales agentes infecciosos que se pueden localizar en el aparato respiratorio y pulmonar de estos rumiantes silvestres.

Tomando como base lo expuesto anteriormente, los principales **OBJETIVOS** que nos planteamos en este trabajo son:

1º.- Conocer el porcentaje de corzos en Galicia que están infectados por nematodos broncopulmonares y gastrointestinales y por *M. bovis*, *M. avium paratuberculosis* y pestivirus.

2º.- Identificar las especies de nematodos halladas en los aparatos respiratorio y digestivo; así como sus asociaciones interespecíficas.

3º.- Establecer si los corzos intervienen en la transmisión de estos agentes infecciosos y parasitarios a los rumiantes domésticos explotados en régimen extensivo en Galicia.

4º.- Determinar la prevalencia e intensidad de infección de las especies de nematodos broncopulmonares y gastrointestinales, al considerar su localización en los diferentes tramos de los aparatos respiratorio y digestivo, respectivamente.

5º.- Estudiar la posible relación entre el porcentaje e intensidad de infección por nematodos broncopulmonares y gastrointestinales y por *M. bovis*, *M. avium paratuberculosis* y pestivirus al tener en cuenta la zona de procedencia, la edad y el sexo de los corzos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- El corzo

El corzo es un artiodáctilo silvestre perteneciente a la familia de los cérvidos. Es un ungulado, es decir, sus extremidades terminan en pezuñas, apoyándose en la última falange, en concreto, en el corzo, sobre los dedos III y IV.

Se encuentra distribuido en la mayor parte de Europa y en una franja de Asia central que se extiende hasta el Pacífico. Es muy abundante en la zona oriental y central de Europa continental, sobre todo en Dinamarca, Austria y Alemania, aunque también está presente en algunas islas, como las británicas (Figura 1).



Figura 1.- Distribución del corzo en el continente europeo.

En España, el corzo fue descrito inicialmente en ejemplares del Sistema Ibérico y taxonómicamente se les incluyó en la subespecie *Capreolus capreolus canus*. Posteriormente se describió una segunda subespecie, que se

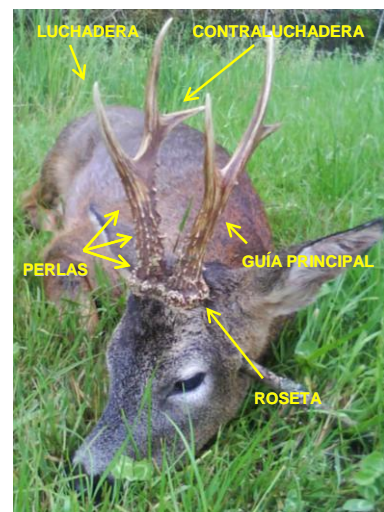
denominó *Capreolus capreolus decorus*, en corzos de la zona noroccidental de la Península Ibérica y de la Cordillera Cantábrica, que se caracterizan por poseer, en invierno, dos manchas de pelo blanco en el cuello. A pesar de la gran variabilidad que presentan muchos de los caracteres anatómicos del corzo, varios estudios morfológicos han puesto de manifiesto diferencias entre las distintas poblaciones peninsulares. Así, Lehmann (1969) señaló por primera vez la singularidad de las poblaciones de corzo de Cádiz y Málaga destacando que los cráneos son más cortos, mientras que la serie molariforme es considerablemente más larga. Meunier (1983) también subrayó diferencias entre estos corzos del sur y los centroeuropeos proponiendo una subespecie para esta población: *Capreolus capreolus garganta* o corzo morisco, que se caracteriza por una menor altura y un pelaje grisáceo en verano. Estudios posteriores señalan que todas estas diferencias sólo darían un carácter de ecotipo al corzo presente en el sur de Andalucía, pero no serían suficientes para su diferenciación taxonómica (Lehmann y Sägeser, 1986; Fandos y Reig, 1993).

2.1.1.- Biología

La talla del corzo es pequeña, con una altura a la cruz de 65 a 75 cm y un peso que oscila entre los 20 y los 30 kg, siendo las hembras ligeramente más pequeñas que los machos. Dentro de la población ibérica hay diferencias de tamaño, ya que los corzos cantábricos alcanzan mayores tallas y pesos, mientras que los andaluces son sensiblemente menores, probablemente como adaptación a un clima y vegetación determinados.

Los machos en general presentan cuernas de reducidas dimensiones y poco ramificadas, de seis puntas, que mudan cada año a principios del invierno y que ya se han desarrollado en primavera.

La cuerna se compone de una guía principal acabada en punta, que se inserta



en el cráneo mediante un ensanchamiento denominado pivote. Aproximadamente en la primera mitad anterior de esta guía principal surge una punta dirigida hacia adelante y hacia arriba denominada luchadera. En el último tercio de la guía aparece una segunda punta, dirigida hacia atrás y que se denomina contraluchadera. La base de la cuerna esta formada por un ensanchamiento de desarrollo variable conocida como roseta o corona. Las protuberancias que se sitúan en la base y que pueden llegar a cubrir toda la cuerna se denominan perlas.

En ambos sexos, el pelaje es pardo-rojizo durante el verano, volviéndose grisáceo en invierno. Sin embargo, como se indicó anteriormente, existen distintas poblaciones de corzos en la Península Ibérica que muestran diferencias en el color de la capa, como el corzo morisco que mantiene un pelaje gris durante todo el año. El pelo del vientre es más claro que el de la espalda y las crías presentan un manto rojizo salpicado de numerosas motas blancas para aumentar su camuflaje con el entorno.

El corzo es un animal de hábitos crepusculares y acusado carácter territorial, especialmente marcado en los machos; éste ocupa un territorio determinado (mantienen una zona de exclusión frente a otros congéneres), de manera que los machos dominantes expulsan de este territorio a los machos jóvenes, provocando su dispersión.

Las hembras forman pequeños grupos en los que la jerarquía social no está tan clara como en los ciervos. Viven con las crías que han tenido ese año y éstas permanecen escondidas la mayor parte del tiempo, acercándose la hembra a ellas sólo para amamantarlas, aunque siempre se mantiene vigilante en las inmediaciones.

El corzo es uno de los pocos ungulados con implantación diferida, por lo que el futuro embrión no se implantará en el útero hasta meses después de la fecundación (Figura 2). Este fenómeno, también conocido como diapausa embrionaria (por el que el cigoto permanece en el útero de la hembra desde julio-agosto hasta principios del invierno en diciembre), sucede con la finalidad

de que las crías no nazcan en la estación invernal; así, tras la diapausa comienza un ciclo de gestación normal y, por fin, al cabo de 9 meses nacen los corcinos en los meses de marzo o abril. Normalmente las hembras primíparas tienen 1 corcino y las multíparas de 1 a 3.






											
Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
CELO		DIAPAUSA EMBRIONARIA			GESTACIÓN			NACIMIENTO			

Figura 2.- Cronobiología reproductiva del corzo.

La fertilidad de las hembras unida a la gran capacidad de adaptación, en general de estos animales, a diversos hábitats han hecho que las poblaciones de corzo se hayan expandido e incrementado su número en las últimas décadas en la Península Ibérica (Braza *et al.*, 1989, Gortázar *et al.*, 2000).

En nuestro país, el principal depredador del corzo es el lobo, que ataca tanto a jóvenes como a adultos y puede incidir muy negativamente sobre las poblaciones de estos ungulados, mientras que el zorro ataca solo a los corcinos.

La dieta del corzo varía a lo largo del año en función de la disponibilidad de comida, aunque muestra preferencia por especies vegetales con alto contenido proteico y solo sale a comer a campo abierto al final del invierno e inicio de primavera para añadir plantas herbáceas a su dieta (un 25% del total), que se basa en el consumo de hojas de arbustos y árboles bajos, así como bayas y brotes tiernos; sin embargo, es capaz de digerir sustancias como taninos, fenoles etc., lo que le permite consumir plantas potencialmente tóxicas y que no son aprovechadas por otros herbívoros. Su capacidad de ingestión es pequeña y está condicionada por el reducido volumen del rumen que le obliga a tomar pequeñas cantidades de alimento a lo largo del día (entre 14 y 15 raciones). Tiene un estómago dividido en 4 cámaras, compartimentación que

en el caso del género *Capreolus* no es completa, lo que le obliga a llevar una dieta rica en componentes nutritivos y digestibles adaptándose perfectamente a los ciclos anuales de la vegetación y con capacidad de limitar el consumo de energía durante la época más desfavorable. Su dentición se caracteriza por ser selenodonta, carecer de incisivos en la mandíbula superior y los caninos inferiores están modificados presentando un cuarto incisivo.

2.1.2.- Distribución

Las principales poblaciones de corzo en España se sitúan en la Cordillera Cantábrica, Pirineos y Sistemas Ibérico y Central; además, hay poblaciones residuales en los Montes de Toledo, Sierra Morena, este de Extremadura y en las sierras andaluzas de Jaén y Cádiz (Figura 3).

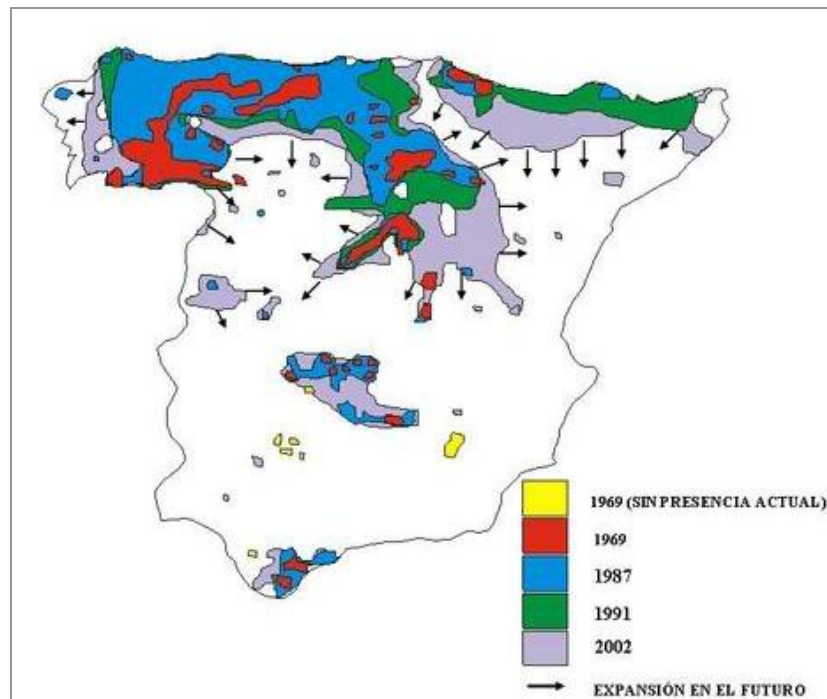


Figura 3.- Distribución y expansión de las poblaciones de corzo en España (Centenera, 2005).

Desde épocas prehistóricas, el hombre ha utilizado al corzo como fuente de alimento y posteriormente, como trofeo cinegético. A principios del siglo XX,

debido a una mala o inexistente política de caza, estuvieron en peligro de extinción las tres especies de cérvidos españoles (ciervo, gamo y corzo). No obstante, la drástica disminución de las poblaciones de lobo, principal depredador de esta especie, en la mayor parte del territorio español en los años 40 (Valverde, 1971) favoreció el incremento del número de cérvidos; además, en la década de los sesenta se introdujeron ejemplares procedentes de Francia, lo que contribuyó notablemente a aumentar las poblaciones de estos ungulados, lo que unido al incremento de la emigración humana de las regiones montañosas hacia los centros industriales conllevó a una menor presión sobre estos animales silvestres.

En las dos últimas décadas las poblaciones de corzo han aumentado considerablemente en la mayor parte de la Península Ibérica, pero sobre todo en el cuadrante noroccidental (Blanco, 1998). De hecho, en la actualidad, el norte de la Península Ibérica está considerado como el núcleo principal de dispersión natural de este ungulado silvestre, que incluso ha colonizado hábitats poco favorables, en un principio, para su desarrollo. En un estudio sobre la distribución del corzo en la Península Ibérica, Aragón (1996) considera dos núcleos principales, el primero abarca la mitad oriental de Galicia, la Cordillera Cantábrica, Montes de León, la mitad norte del Sistema Ibérico y parte del Sistema Central, mientras que el segundo gran núcleo lo constituye el Pirineo, desde Navarra hasta Gerona; además este autor señala que en la zona sur, debido a su climatología, el corzo no se distribuye de forma homogénea, de modo que existen núcleos aislados, como son los Montes de Toledo, Sierra Morena y las sierras de Cádiz y Málaga, y no se han observado ejemplares en el levante.

Si nos centramos en el noroeste de España, hay que señalar que actualmente el corzo es el ungulado silvestre de mayor crecimiento demográfico y que Galicia es la región española en la que la densidad de corzo es mayor. No obstante, en nuestra Comunidad, la densidad de estos animales varía de unas provincias a otras (Braza *et al.*, 1989), siendo más abundante en Lugo y Ourense y menos en A Coruña y Pontevedra.

En los últimos treinta años las poblaciones de corzos en Galicia se han incrementado considerablemente y en la actualidad se están expandiendo hacia la zona más occidental de nuestra Comunidad, aunque esta expansión está limitada por el trazado de la autopista AP-9. La dispersión del corzo se ha producido, principalmente, a partir de las poblaciones de las áreas montañosas de la provincia de Ourense, de la Sierra de Os Ancares (Lugo), de la Sierra de O Xistral (Lugo y A Coruña) y de la Sierra de A Capelada (A Coruña). Además, como se puede observar en la Figura 4, en la última década se ha incrementado sensiblemente la densidad de población. La densidad se establece basándose en el número de ejemplares por cada 100 hectáreas, considerándose que es: baja cuando hay entre 3 y 5, media entre 5 y 15, alta entre 15 y 20 y muy alta cuando hay más de 20/100 Ha.

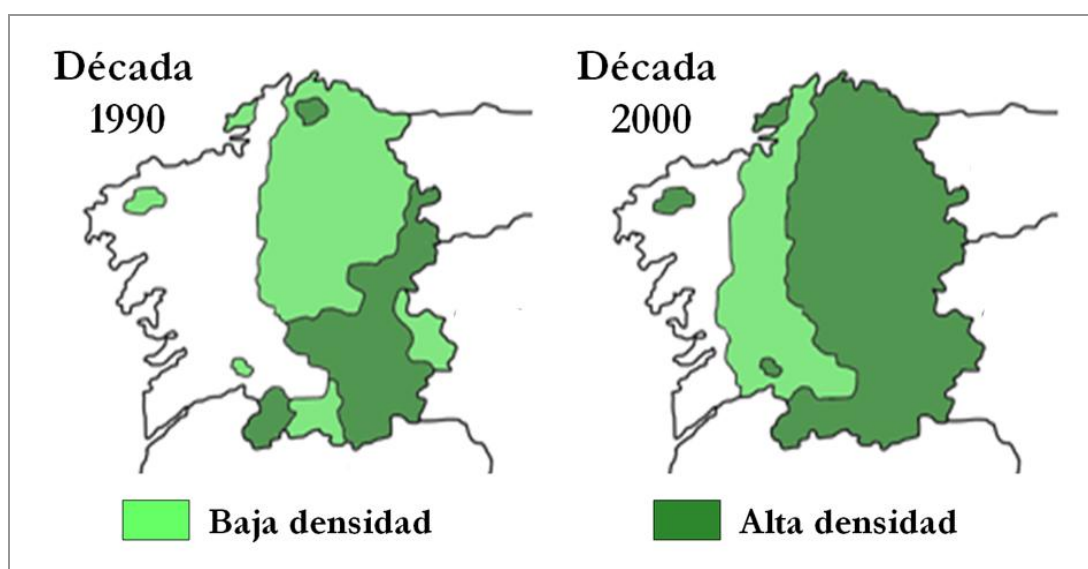


Figura 4.- Expansión del corzo en Galicia y evolución de la densidad de las poblaciones en la última década.

Dentro de los factores que influyen sobre la distribución de las poblaciones de corzos podríamos señalar: los recursos alimenticios que existan en el hábitat, las condiciones edafoclimáticas, el abandono progresivo de las explotaciones agro-ganaderas y la competición con otras especies, fundamentalmente otros rumiantes que compiten con el y provocan su desplazamiento.

Respecto a los recursos de alimentos, el corzo es muy selectivo y sólo consume las plantas más nutritivas de cada estación; quedando sus necesidades de agua cubiertas por el propio alimento (Martínez, 1997). No obstante, el número de especies de plantas que consume es muy amplio y varía según la región y la época del año (Fandos *et al.*, 1987); durante todo el año consume zarzas en grandes proporciones y en otoño también hojas de roble que comen nada más caer al suelo y antes de que se sequen (Álvarez y Ramos, 1992), además, se alimentan de brotes tiernos de sauces, chopos, abedules, alisos y otros árboles de hoja caduca. En la época invernal, debido a que disponen de menos alimento, en Galicia también consumen carquesas (*Genista tridentata*), brezos (*Daboecia cantabrica*) y arándanos (*Vaccinium myrtillus*). En general, en el Noroeste de España, en otoño e invierno se alimenta fundamentalmente de plantas leñosas, mientras que en primavera y verano consume principalmente plantas herbáceas, lo que ocasiona que salga a alimentarse a praderas en las que también pueden pastar rumiantes domésticos, lo que puede dar origen a la transmisión de diversos agentes infecciosos y parasitarios.

La elevada adaptación del corzo a consumir diversas especies vegetales puede llevar a la degradación del medio, por este motivo resulta de extraordinaria importancia el mantener la densidad de corzos en niveles adecuados para evitar daños en las plantaciones forestales debido al ramoneo de brotes y plántulas y en menor medida a los descortezamientos que origina. En este sentido, Papageorgiou (1978) señaló la posibilidad de mejorar el hábitat del corzo al tiempo que se reducía su incidencia negativa sobre las plantaciones y/o sobre la regeneración natural de los bosques, proponiendo que en las áreas forestales se intercalaran zonas abiertas en forma de pequeñas parcelas de 0,2-0,5 hectáreas ocupadas por matorral, pastizal o cultivos forrajeros.

En relación con las condiciones edafo-climáticas del medio, el corzo vive mejor en zonas húmedas y frías, esto explicaría la menor densidad que existe en España con respecto al resto de Europa, debido a que el régimen de lluvias

del ambiente mediterráneo limita la disponibilidad de vegetales para la alimentación de éstos y otros herbívoros silvestres, siendo ésta una de las razones principales por las que en el sur de España el corzo se encuentra confinado en zonas de montaña, formando grupos aislados y alejados entre sí. No obstante, a pesar de esta distribución, no debe considerarse a este ungulado como una especie típicamente de montaña, puesto que en el tercio norte peninsular se distribuye a lo largo de una franja continua donde se pueden encontrar tanto a 60 metros sobre el nivel del mar como en altitudes de 1800 metros (Cid y Chouza, 1995), aunque su presencia depende, en gran medida, de la presión que negativa que ejerzan sobre ellos el lobo, que es su principal depredador, así como la mala gestión que sobre sus poblaciones efectúe el hombre.

El aprovechamiento por parte del hombre del entorno en el que vive el corzo influye en su distribución; de hecho, en Galicia, el abandono progresivo de las tierras de cultivo ha propiciado que, en la actualidad, en gran parte de esta Comunidad se observe un mosaico de parcelas de cultivo y extensiones medias o pequeñas de monte que constituyen el medio ideal para el corzo, debido a la diversidad de recursos vegetales a su disposición.

La presencia de este herbívoro también está influida por otras especies de ruminantes que le pueden llegar a desplazar. En este sentido, el ciervo parece competir por el mismo hábitat que el corzo, debido a que el comportamiento solitario de éste último hace que abandone su zona cuando es ocupada por el ciervo (Martínez, 1997); también influye negativamente sobre las poblaciones de corzos el que en la zona haya explotaciones en extensivo de cabras o estas vivan en libertad porque compiten directamente por el alimento.

Para mantener poblaciones equilibradas de corzos es necesario realizar una buena gestión, en la que se debe incluir el controlar el estado sanitario de los animales y procurar que este sea óptimo; no obstante, cuando el número de corzos en un determinado hábitat es excesivo, se necesita realizar una buena gestión cinegética. En la mayor parte de Europa, para mantener estable su

número y evitar daños en las plantaciones forestales y/o en cultivos, se recomienda abatir anualmente entre el 25 al 40% de los animales en aquellas poblaciones que presenten mayor densidad (Costa, 1992); además, se debe mantener un ratio adecuado de machos/hembras que según este autor debe ser de 1:1.

2.2.- Agentes parasitarios

2.2.1.- Nematodos broncopulmonares de los rumiantes

Estas infecciones se conocen también con el nombre de «bronconeumonías parasitarias» o «bronconeumonías verminosas» y en ellas intervienen diversos géneros y especies que, en los rumiantes, pertenecen a las familias: **Dictyocaulidae** (*Dictyocaulus*) y **Protostrongylidae** (*Protostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Neoststrongylus* y *Varestrongylus*).

2.2.1.1.- Etiología

Los nematodos pulmonares son filiformes y su tamaño oscila entre 5 mm (*Neoststrongylus*) y 11 cm (*Dictyocaulus*). Por lo general, carecen de cápsula bucal o es muy poco aparente.

Para la descripción de los géneros y especies nos basamos en los trabajos de Skrjabin *et al.* (1952), Skrjabin *et al.* (1971), Boev (1975), Carrillo *et al.* (1994) y Panadero *et al.* (2001). Además, los esquemas de las principales estructuras morfológicas de la mayoría de las especies se han adaptado basándonos en los dibujos realizados por los autores anteriormente citados.

2.2.1.1.1.- Familia Dictyocaulidae

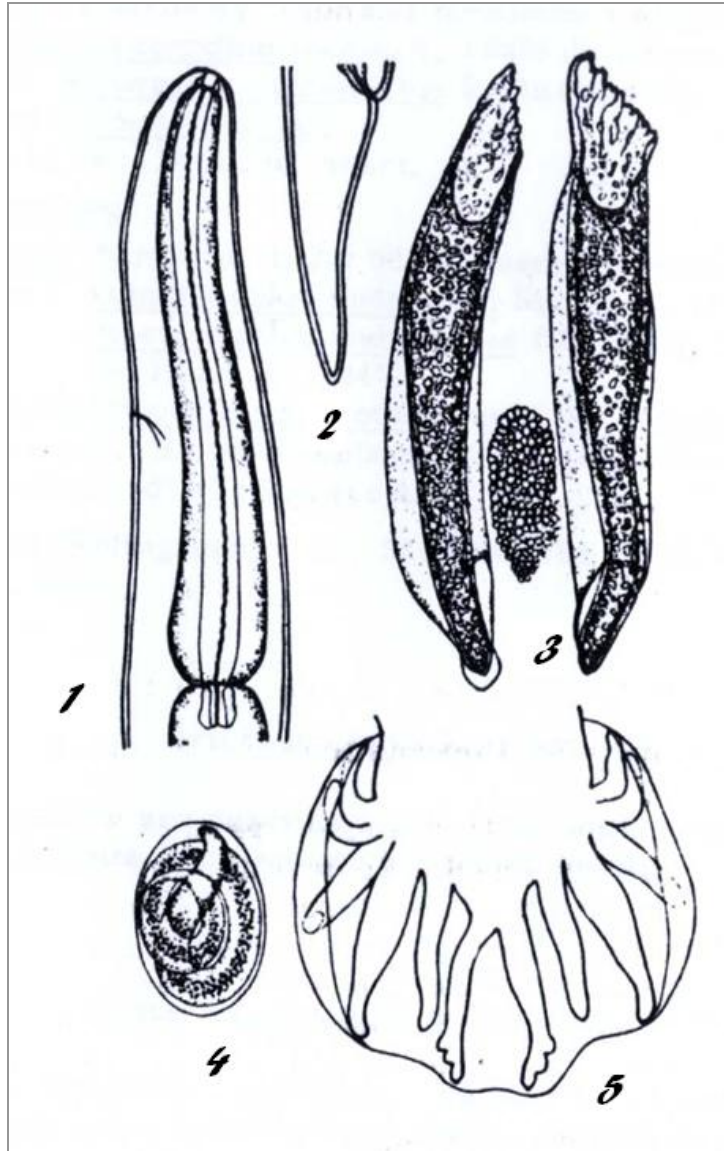
Género *Dictyocaulus*, Railliet y Henry (1907).

Las especies de este género se localizan en la tráquea, bronquios y bronquiolos. Presentan color blanquecino, su cuerpo es delgado, filiforme y con extremos puntiagudos. Las especies más importantes son:

Dictyocaulus viviparus, Bloch (1782).

Localización: bronquios y tráquea.

Hospedadores: vacas y bisontes.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior de la hembra. 3. Espículas y gubernáculo.
4. Huevo. 5. Extremo posterior del macho.

Figura 5.- Principales estructuras morfológicas de *Dictyocaulus viviparus*.

Los machos miden de 3,5 a 5,5 cm de largo y 320-370 μm de ancho. La cápsula bucal está rodeada por 4 pequeños labios y posee una pequeña cavidad con un anillo quitinoso en su parte posterior. La bolsa copulatriz es proporcionalmente pequeña y está desprovista de costilla medial, aunque tiene

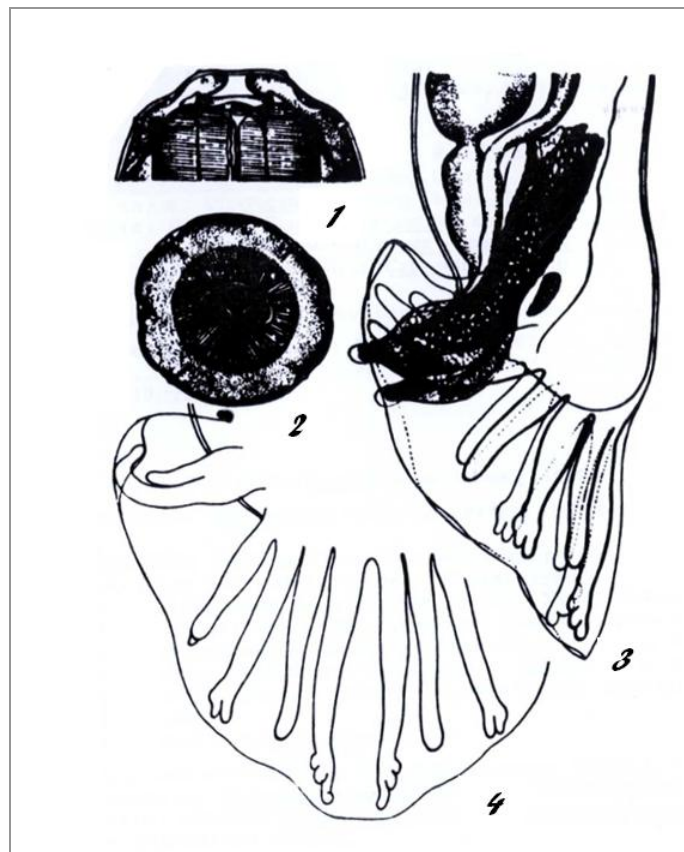
seis costillas laterales. Las costillas media y posterolateral están unidas. Las espículas son iguales, cortas, gruesas y oscuras, de 195-215 μm de longitud. El gubernáculo presenta forma “alveolar”.

Las hembras miden 6-8 cm x 384-592 μm . El extremo posterior es corto y puntiagudo. El útero es de tipo anfidelfo. La vulva se sitúa aproximadamente hacia la mitad del cuerpo y está delimitada por procesos cuticulares en forma de labios. La abertura vulvar se encuentra hacia la parte posterior del cuerpo.

Dictyocaulus filaria, Rudolphi (1809).

Localización: bronquios y tráquea.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. y 2. Cabeza. 3. Extremo posterior del macho.
4. Costillas de la bolsa.

Figura 6.- Principales estructuras morfológicas de *Dictyocaulus filaria*.

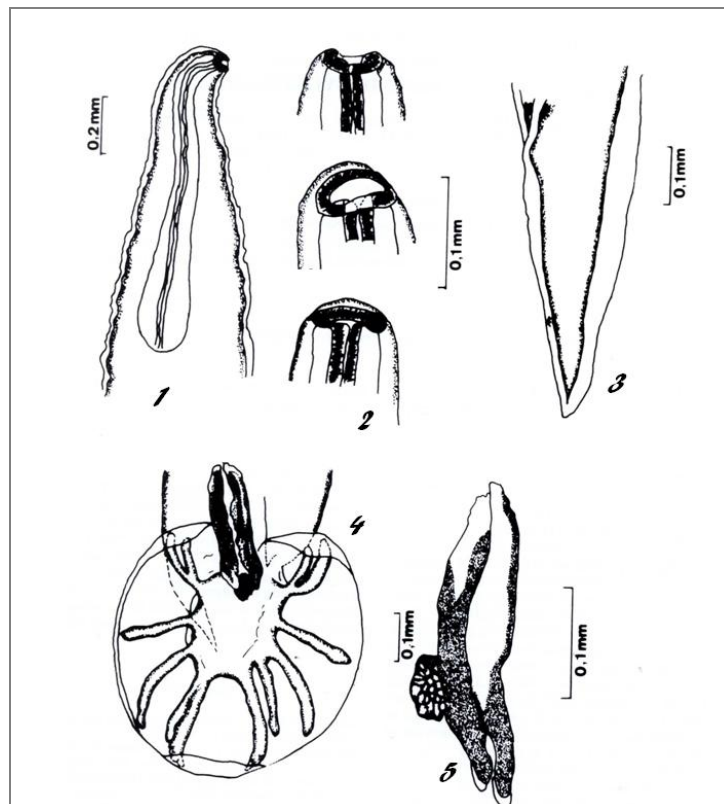
Los machos miden 3-8 cm x 352-464 μm y en su extremo anterior poseen una cápsula bucal pequeña con 4 labios muy reducidos. En la bolsa copulatriz las costillas media y posterolateral están unidas, excepto en su extremo. La costilla externodorsal está hendida en su base derecha. Las espículas son gruesas, oscuras y con forma de bota; miden 400-640 μm . El gubernáculo es pequeño.

Las hembras miden de 5 a 11 cm por 528-592 μm . La vulva se sitúa hacia la mitad del cuerpo y se halla delimitada por dos procesos cuticulares, su extremo posterior es romo.

Dictyocaulus noernerii, Railliet y Henri, 1907 (= ***Dictyocaulus eckerti***, Skrjabin, 1931).

Localización: bronquios.

Hospedadores: **ciervos**, **alces** y **corzos**.



1. y 2. Extremo anterior. 3. Extremo posterior de la hembra. 4. Extremo posterior del macho.
5. Espículas y gubernáculo.

Figura 7.- Principales estructuras morfológicas de *Dictyocaulus noernerii*

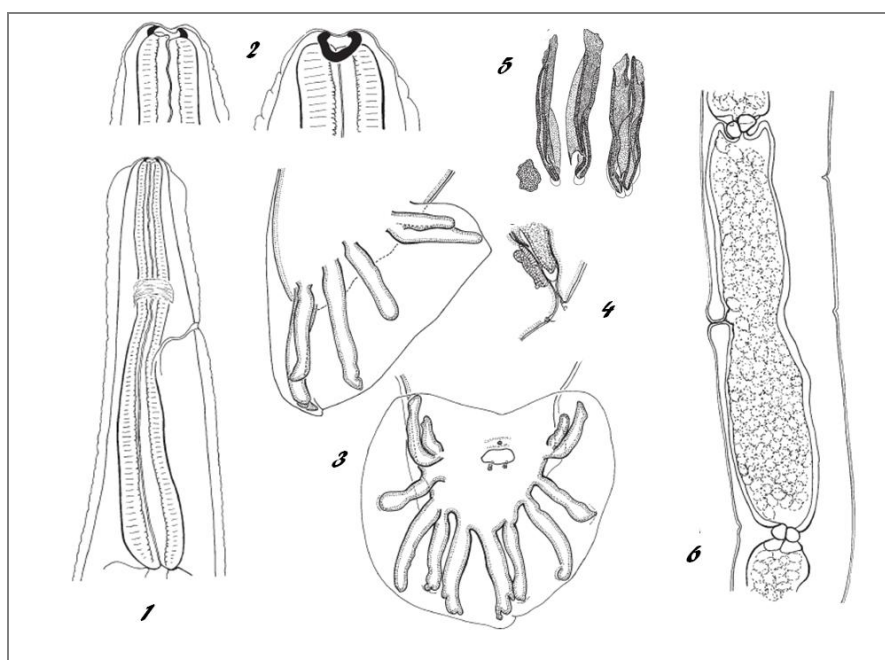
Los machos miden de 1,8 a 4 cm x 368-576 μm . En la bolsa copultriz, las costillas dorsales se dividen en el ápice en tres pequeños lóbulos; el lóbulo lateral es el más ancho, el posterior se encuentra digitado y es el más largo. Las costillas externas dorsales se hallan separadas y son más cortas que las adyacentes presentando un engrosamiento en el ápice con forma de "pomo". Las costillas mediolateral y posterolateral están fusionadas en toda su longitud, sin bifurcación en su ápice. Las costillas ventrales se fusionan en la base y se dividen a lo largo de la mayoría de su longitud. Las espículas son gruesas y de color marrón oscuro y miden 204-260 μm x 20-40 μm . El gubernáculo es mucho más pequeño que las espículas.

Las hembras miden 3-6,5 cm x 384-650 μm . La vulva presenta forma de hendidura transversal y algunas veces se encuentra rodeada por un pequeño proceso caliciforme.

Dictyocaulus capreolus, Gibbons y Höglund (2002).

Localización: bronquios.

Hospedadores: alces y corzos.



1. y 2. Extremo anterior. 3. Bolsa copultriz. 4. Detalle del cono genital.
5. Espículas y gubernáculo. 6. Región vulvar de la hembra.

Figura 8.- Principales estructuras morfológicas de *Dictyocaulus capreolus*.

Los machos miden entre 2,4 y 6,2 cm de largo y una anchura de 136–312 μm . La vesícula cefálica presenta una anchura comprendida entre 104 y 280 μm mientras que el esófago mide 832–1464 μm de largo. No presentan papilas cervicales. Las espículas tienen una longitud de entre 224 y 280 μm , presentan textura porosa y dos alas esclerotizadas, la primera se extiende desde la tercera rama proximal y la segunda se inicia en la mitad distal que termina cerca de la punta. Se puede observar una pequeña membrana transparente en el margen exterior de las mismas. Presentan gubernáculo, cuya longitud está comprendida entre 22 y 72 μm . La bolsa copulatriz tiene forma de “campana”, los lóbulos no están separados y en la vista dorso-ventral presenta forma de “corazón”. El cono genital es simple y con dos papilas pero no presenta membrana.

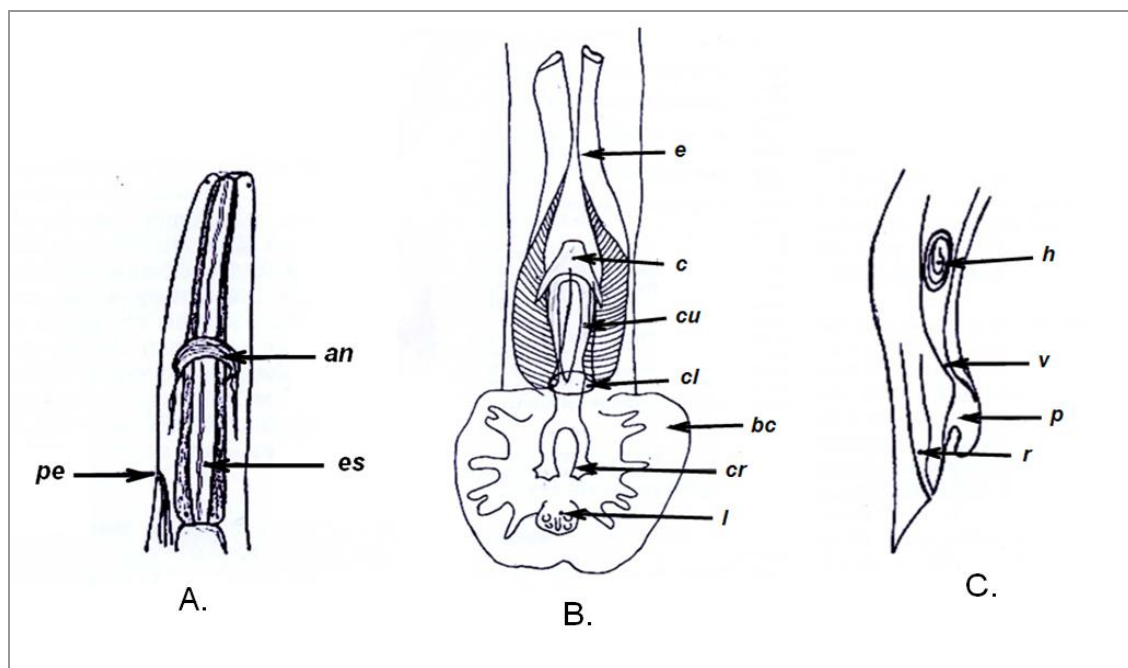
Las hembras presentan una longitud de 3,4-8,1 cm por 340-592 μm de ancho. La vesícula cefálica está generalmente presente con una anchura comprendida entre 116 y 320 μm . El esófago mide 880–1616 μm de largo. No presentan papilas cervicales. El extremo terminal mide entre 336 y 632 μm de largo.

2.2.1.1.2.- Familia *Protostrongylidae*

Género *Protostrongylus*, Kamensky (1905).

Los nematodos de este género se localizan principalmente en los bronquiolos. Los machos miden de 1,6 a 4,6 cm, son filiformes y de color oscuro; la bolsa copulatriz es corta y está reforzada dorsolateralmente por el telamón (estructura de apoyo conformada por capítulo, cuerpo y crura) que es de naturaleza quitinosa y tiene forma de arco. Presentan costillas ventrales, laterales y externodorsales, siendo la dorsal un tronco grueso que posee 6 pequeñas expansiones en su cara ventral.

Las espículas miden unos 240-330 μm , son tubulares y con dos alas membranosas en su porción distal. El gubernáculo consta de cabeza, cuerpo y crura (Figura 9).



A. Extremo anterior. B. Extremo posterior del macho. C. Extremo posterior de la hembra.

c — capítulo; *e* — espículas; *h* — huevo; *l* — lóbulo; *p* — provagina; *r* — recto; *v* — vagina; *an* — anillo nervioso; *bc* — bolsa copulatriz; *cl* — cloaca; *cu* — cuerpo; *cr* — crura; *es* — esófago; *pe* — poro excretor.

Figura 9.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus* spp.

Las hembras miden entre 2,5 y 6,5 cm. La vulva se sitúa en las proximidades del ano y la vagina está separada del útero por un grueso esfínter, siendo su extremo final conoide.

Las especies más frecuentes son:

Protostrongylus rufescens, Leuckart, (1865).

Localización: tráquea, bronquios y bronquiolos.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres**.



1. Larva. 2. Extremo posterior de la hembra. 3. Extremo anterior. 4. y 5. Extremo posterior del macho.

Figura 10.- Principales estructuras morfológicas de de *Protostrongylus rufescens*.

Los machos miden 2-5 cm de largo y poseen una bolsa copulatrix poco desarrollada. La costilla dorsal externa se encuentra separada, la posterolateral y la mediolateral se hallan fusionadas en sus dos tercios proximales. En la base de la bolsa copulatrix hay un arco esclerosado, que consta de dos partes articuladas en la base de la costilla dorsal. Las espículas son rectas y en su porción dorsal tienen dos alas membranosas.

Las hembras miden entre 3 y 7 cm de largo y su vagina se halla separada del útero por un esfínter.

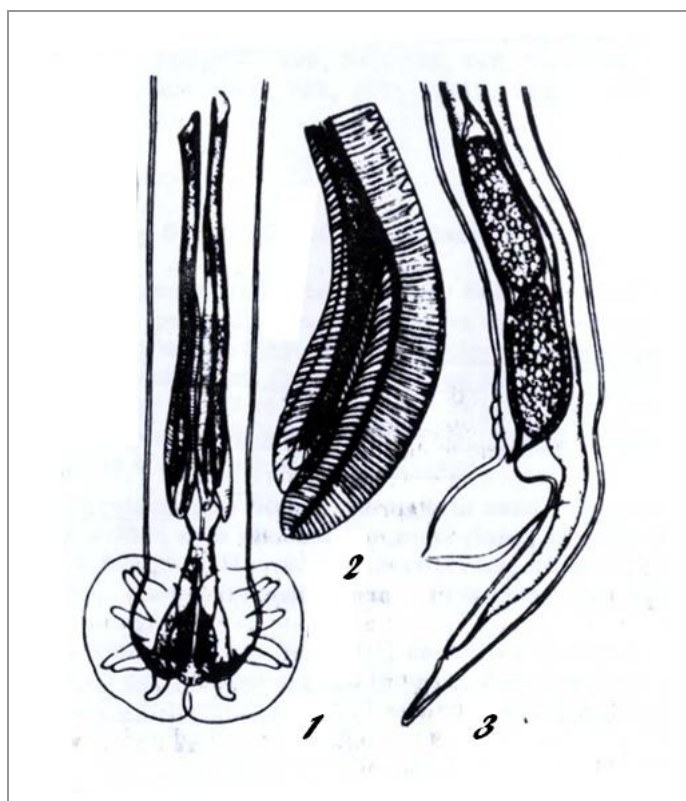
Protostrongylus davtiani, Savina (1940).

Localización: bronquiolo.

Hospedadores: cabras, ovejas y **rumiantes silvestres.**

Los machos miden entre 0,29 y 0,35 mm; el extremo anterior es pequeño y presenta forma de “mango”.

En las hembras el ano se sitúa a 0,06 mm de la extremidad terminal y la vulva se halla a 0,18 mm de éste. Presentan la provagina muy desarrollada.



1. Extremo posterior del macho. 2. Extremo distal de las espículas.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 11.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus davtiani*.

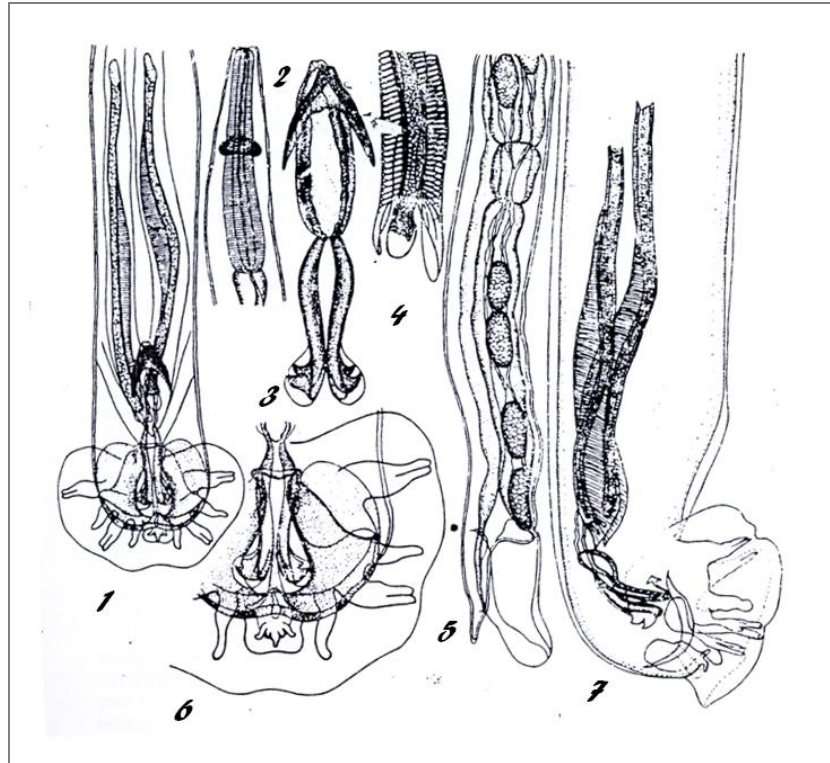
Protostrongylus raillieti, Schulz, Orlov y Kutass (1933).

Localización: tráquea y bronquiolos.

Hospedadores: cabras y ovejas.

Los machos miden entre 2,3 y 7,5 cm y su anchura está comprendida entre 192 y 500 μm . La longitud del esófago oscila entre 304 y 384 μm . Presentan apéndices terminados en formas agudas o redondeadas en el extremo inferior de los pilares. Las espículas miden entre 400 y 504 μm .

Las hembras miden 3,1-9,2 cm de largo y de 192 a 224 μm de ancho. Poseen una provagina muy desarrollada. La longitud del esófago es de 618 a 1128 μm de largo.



1. y 7. Extremo posterior del macho. 2. Extremo anterior. 3. Gubernáculo. 4. Extremo posterior de las espículas. 5. Extremo posterior de la hembra. 6. Bolsa copulatrix.

Figura 12.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus railletii*.

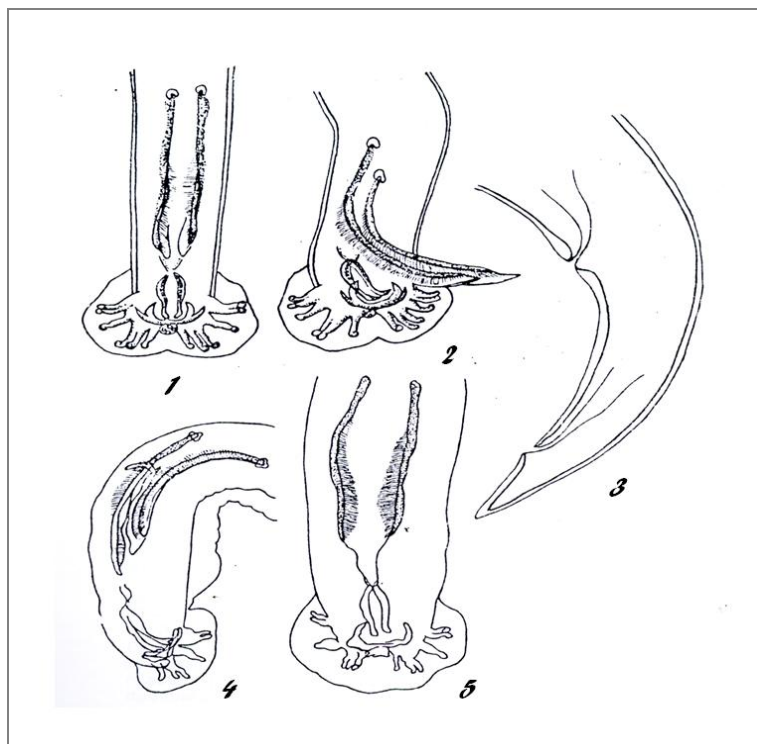
***Protostrongylus brevispiculum*, Mikacic (1940).**

Localización: pulmón.

Hospedadores: ovejas.

Los machos miden entre 0,027 y 0,040 mm de largo y de 20-22 μm de ancho y el esófago 177-200 μm .

Las hembras miden aproximadamente 2,4 cm. La distancia de la vulva al ano está comprendida entre 58 y 70 μm .



1. y 5. Extremo posterior del macho, vista frontal. 2. y 5. Extremo posterior del macho, vista lateral.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 13.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus brevispiculum*.

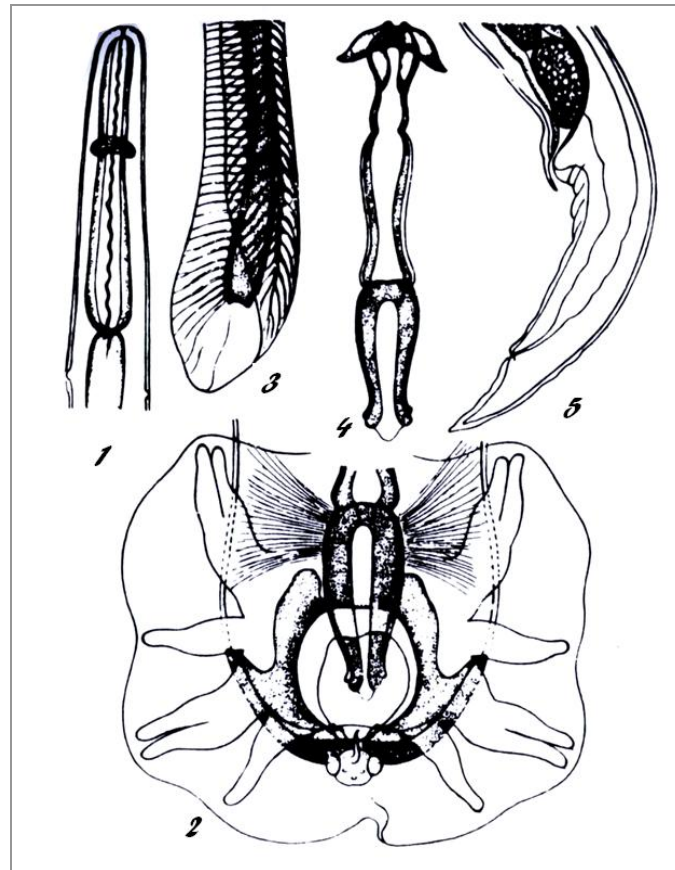
***Protostrongylus skrjabini*, Boev (1936).**

Localización: bronquiolos.

Hospedadores: cabras y ovejas.

Los machos miden de 1,6 a 2,4 cm de largo y 51-109 μm de ancho. El extremo distal de las espículas presenta forma redondeada. La longitud de la crura está comprendida entre 208 y 258 μm y las excrescencias laterales de los extremos distales de la misma presentan forma de "botón". El esófago mide 186-222 μm de largo.

Las hembras miden 1,02 cm de largo y 66 y 80 μm de ancho. La vagina presenta una longitud de 450 μm .



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho. 3. Extremo distal de las espículas.
4. Gubernáculo. 5. Extremo posterior de la hembra.

Figura 14.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus skrjabini*.

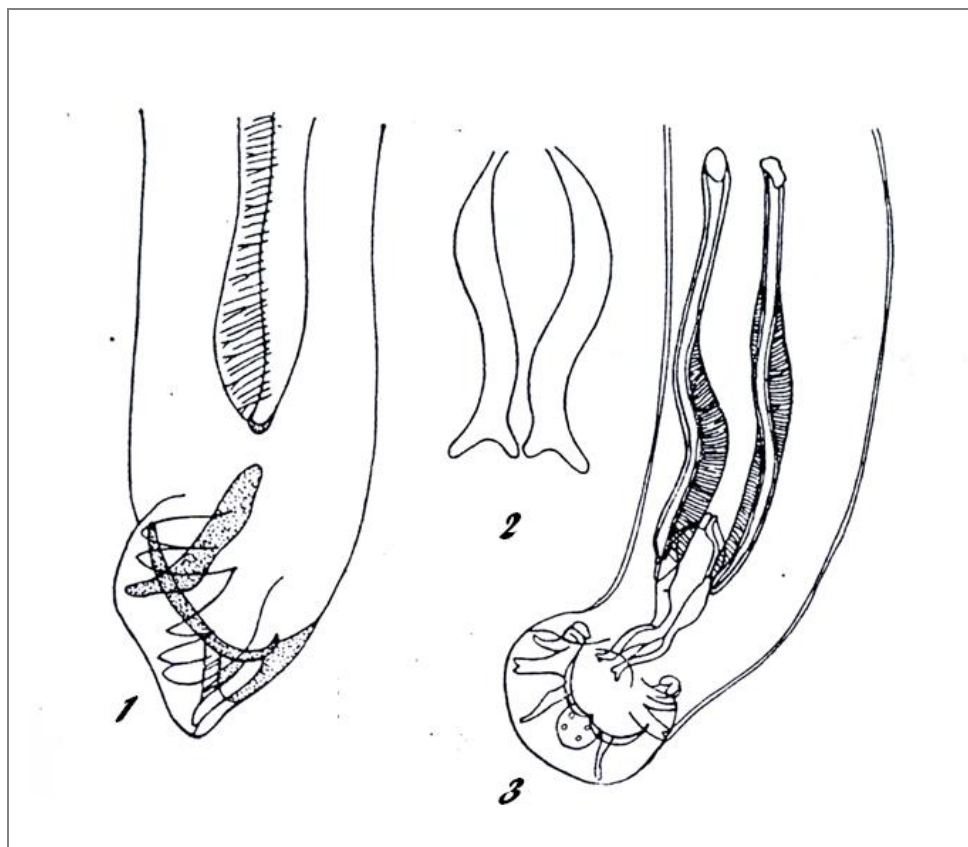
Protostrongylus cameroni, Schulz y Boev (1940).

Localización: bronquiolos.

Hospedadores: ovejas.

Los machos miden 1,5 cm de largo; las espículas miden 400 μm y están pigmentadas.

Las hembras tienen una longitud de 2,4 cm y la vulva está situada a 150 μm del ano y a 60 μm de la extremidad distal.



1. y 3. Extremo posterior del macho. 2. Gubernáculo.

Figura 15.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus cameroni*.

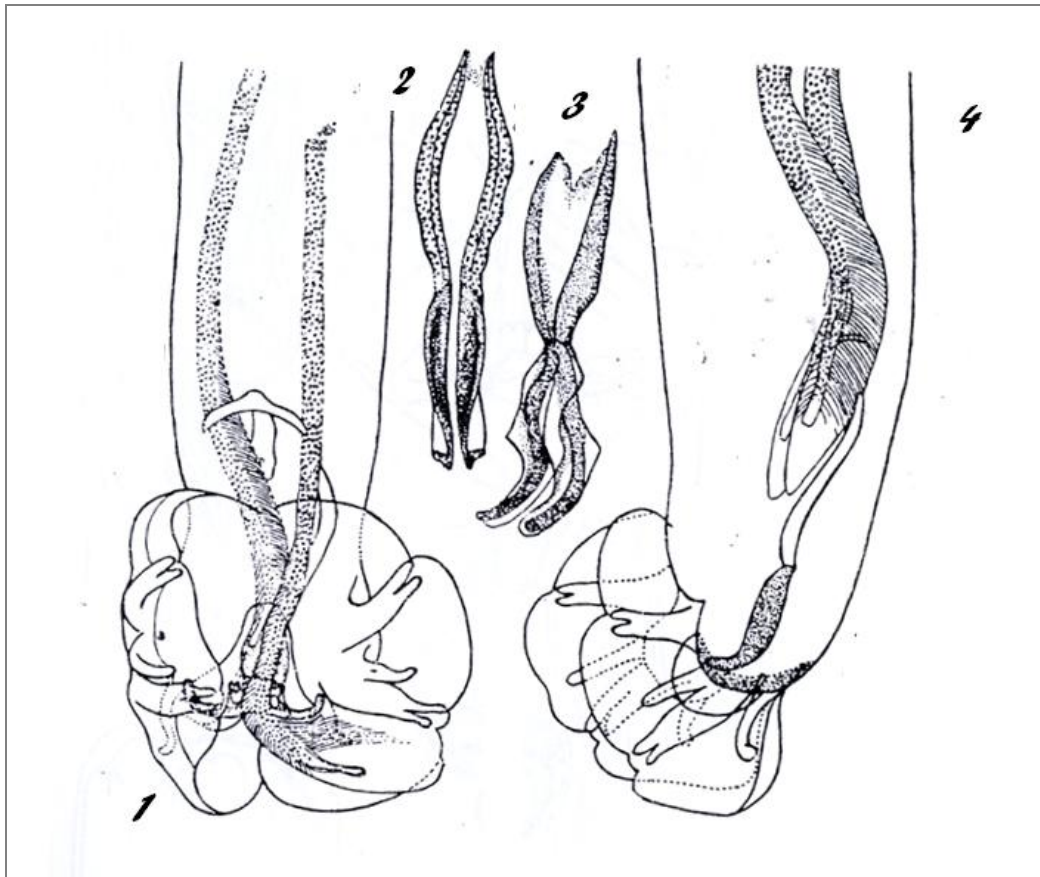
***Protostrongylus rupicaprae*, Gebauer (1932).**

Localización: pulmón.

Hospedadores: **rebecos**.

Los machos miden entre 2,1 y 3 cm de largo y 28-36 μm de ancho. Las espículas tienen una longitud de 220-270 μm y una anchura de 10 μm .

La longitud de las hembras es de 2,3 y 4,1 cm de largo por 44-56 μm de ancho. La vulva se encuentra a 150-220 μm de la extremidad distal.



1. y 4. Bolsa copulatrix del macho. 2. y 3. Gubernáculo.

Figura 16.- Principales estructuras morfológicas de *Protostrongylus rupicaprae*.

Género *Spiculocaulus*, Schulz, Orlov y Kutass (1933).

Los nematodos de este género se localizan principalmente en los bronquios. Los machos miden de 2,5 a 2,6 cm y presentan una bolsa copulatrix con una costilla dorsal en forma de “tubérculo”, provista de una estructura a modo de “tallo” o con papilas pediculadas. El gubernaculo consta de capítulo bien desarrollado, cuerpo, una delgada crura y arco simple.

Las hembras miden 3,9-4,9 cm. La vagina es larga y tienen una provagina muy corta en forma de “lengua”. La vulva se encuentra en el extremo posterior de la parte distal.

Las especies más frecuentes son:

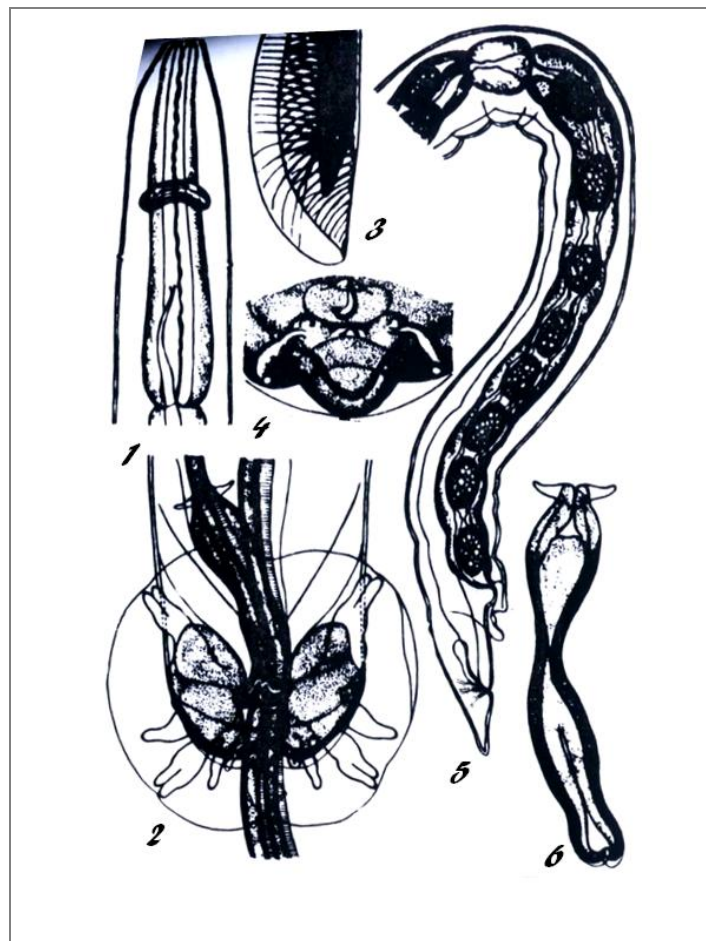
Spiculocaulus leuckarti, Schulz, Orlov y Kutass (1933).

Localización: tráquea y bronquios.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres.**

Los machos miden de 2,5 a 2,6 cm de largo por 189-195 μm de anchura. Las espículas son muy largas (1400 y 1700 μm) y el extremo distal de las mismas presenta forma de "peine".

Las hembras miden de 3,9 a 4,9 cm de largo por 234 μm de ancho. La longitud de la vagina es de 1600 μm y su anchura de 70 μm .



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho. 3. Extremo distal de las espículas.
4. Costilla dorsal. 5. Extremo posterior de la hembra. 6. Gubernáculo.

Figura 17.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculocaulus leuckarti*.

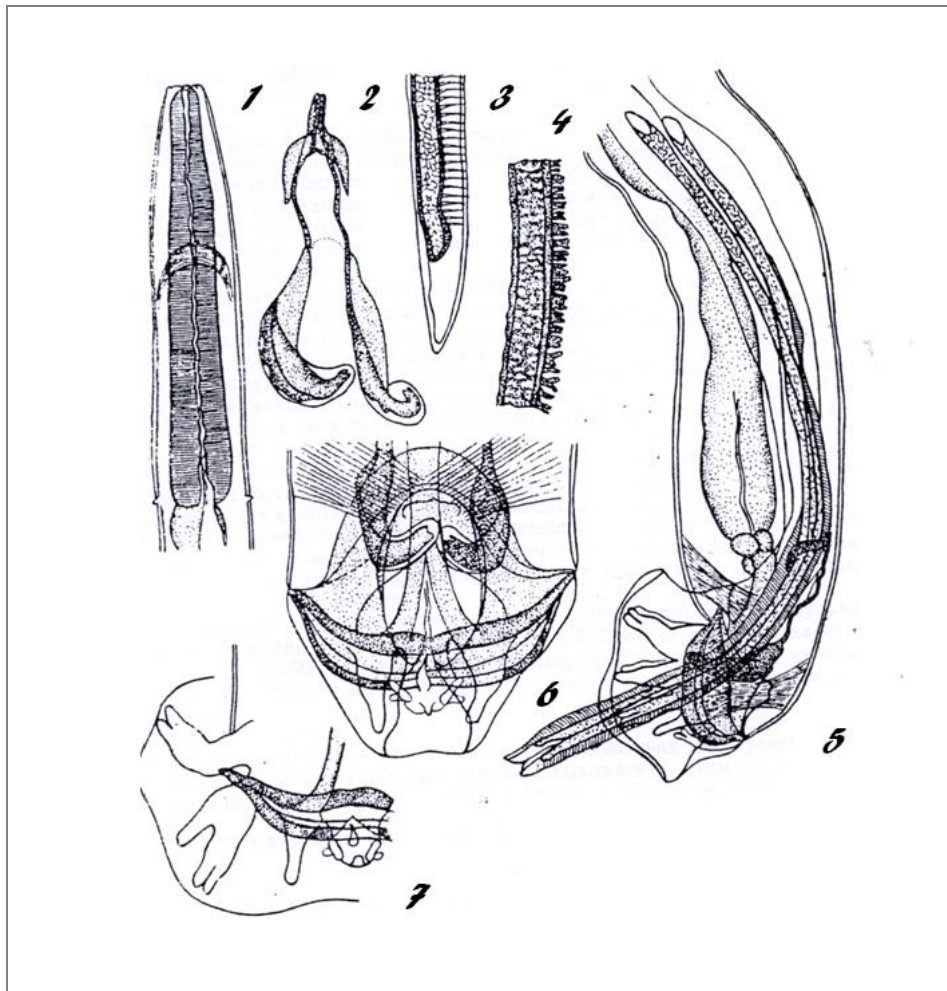
Spiculocaulus orloffii, Boev y Murzina (1948).

Localización: bronquios.

Hospedadores: cabras, ovejas y **rumiantes silvestres.**

Los machos miden entre 1,9 y 3,4 cm de largo y 100-189 μm de ancho. Las espículas tienen una longitud de 506 a 705 μm , son de color amarillo pálido y presentan forma de “peine”.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de la hembras de ***Spiculocaulus orloffii***.

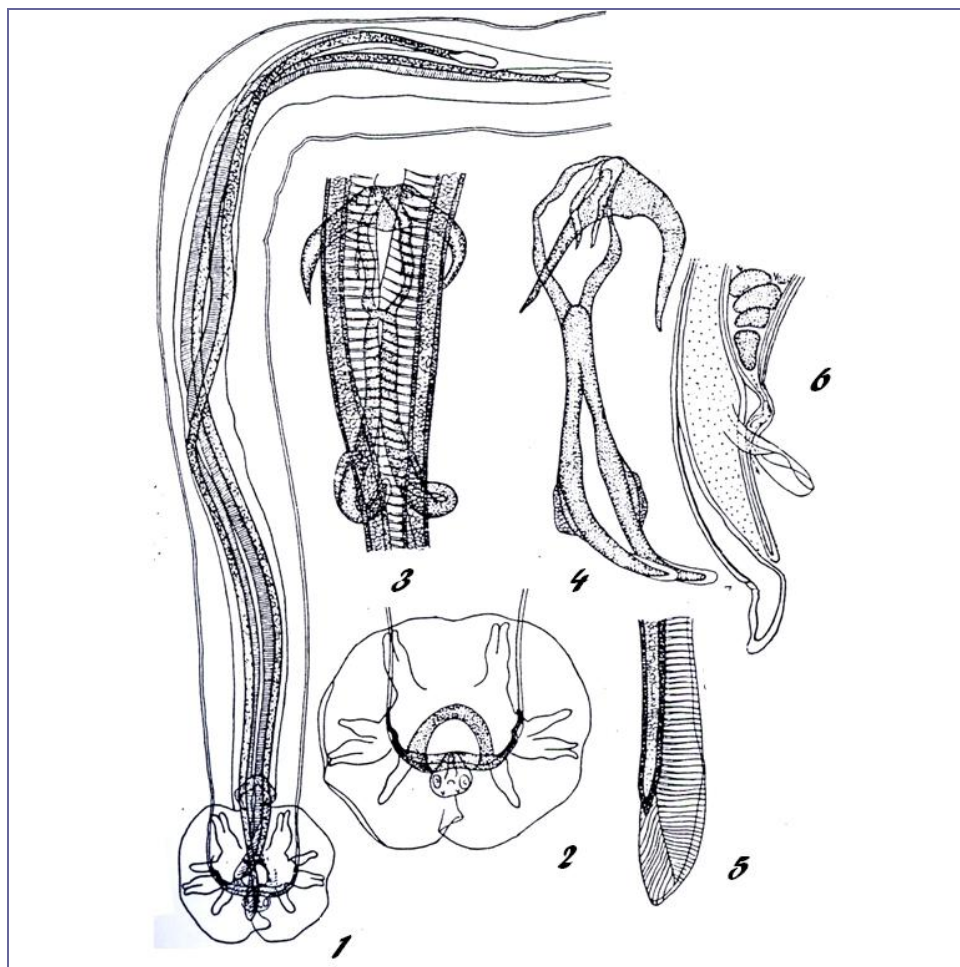


1. Extremo anterior. 2. Gubernáculo. 3. y 4. Extremo distal de las espículas. 5., 6. y 7. Extremo posterior del macho.

Figura 18.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculocaulus orloffii*.

Spiculocaulus austriacus, Gebauer (1932).

Localización: bronquios.

Hospedadores: cabras, corzos y otros rumiantes silvestres.

1. y 2. Extremo posterior del macho. 3. Espículas y gubernáculo. 4. Gubernáculo. 5. Extremo distal de las espículas. 6. Extremo posterior de la hembra.

Figura 19.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculocaulus austriacus*.

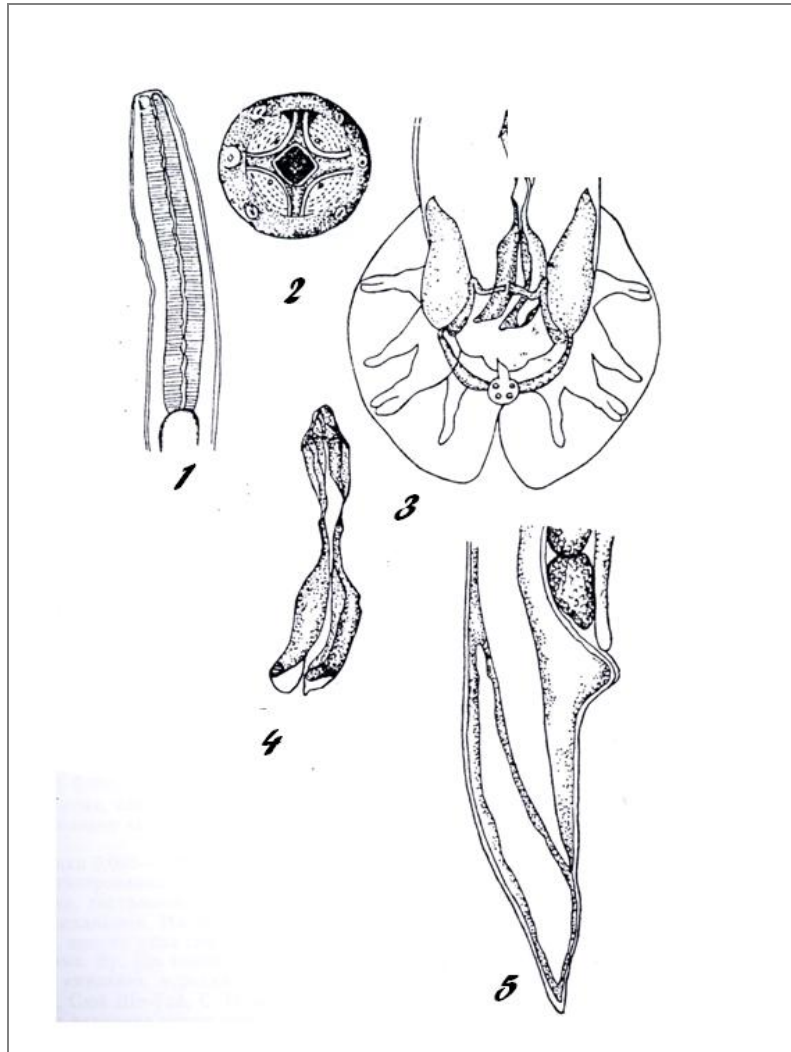
Los machos miden entre 1,8 y 3,2 cm de largo por 130-161 μm de ancho. La longitud del esófago está comprendida entre 364 y 562 μm y la de las espículas de 960-1324 μm de largo.

Las hembras miden 2,5 cm de largo y 170 y 190 μm de ancho. La vagina se sitúa a 125 μm del ano.

Spiculocaulus kwongi, Wu y Liu(1943).

Localización: lóbulos posteriores de los pulmones.

Hospedadores: cabras y ovejas.



1. y 2. Extremo anterior. 3. Bolsa copulatrix del macho. 4. Gubernáculo. 5. Extremo posterior de la hembra.

Figura 20.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculocaulus kwongi*.

Los machos miden entre 2,8 y 5,5 cm de largo por 122-204 μm de ancho. Las espículas presentan una longitud comprendida entre 1660 y 2350 μm y el gubernáculo entre 136 y 160 μm .

Las hembras miden entre 4 y 4,5 cm de largo 175-200 μm de ancho.

Género *Muellerius*, Cameron (1927).

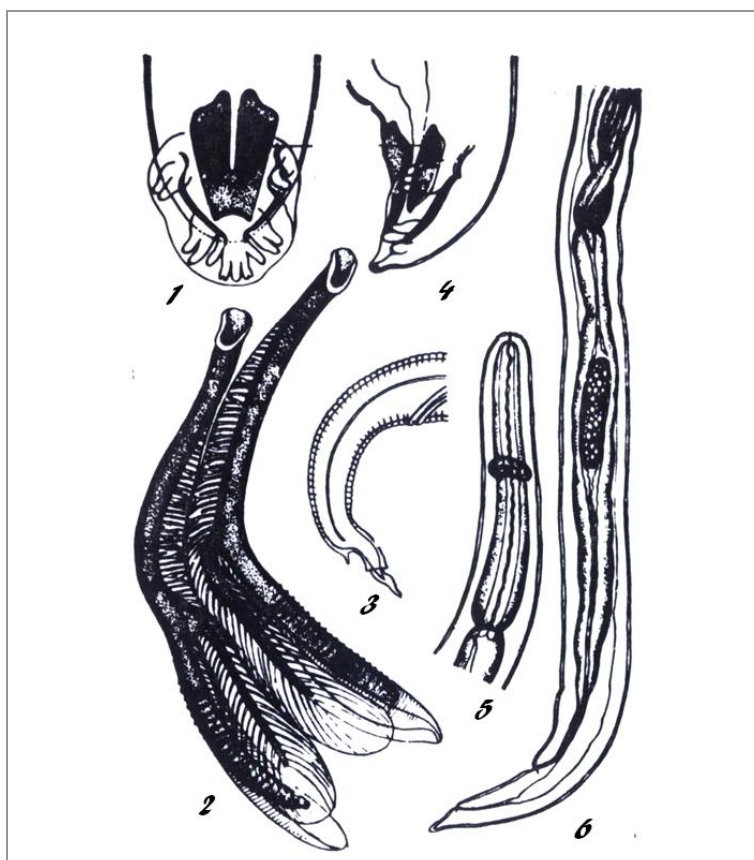
Se trata de vermes filiformes de color blanquecino. Los machos alcanzan unos 2,5 cm y las hembras unos 3 cm. El extremo posterior de los machos está enrollado en forma de sacacorchos.

Las principales especies son:

***Muellerius capillaris*, Mueller (1889).**

Localización: alvéolos y parénquima pulmonar.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. y 4. Extremo posterior del macho. 2. Espículas. 3. Larva.
5. Extremo anterior. 6. Extremo posterior de la hembra.

Figura 21.- Principales estructuras morfológicas de *Muellerius capillaris*.

Los machos miden 1,2-2,6 cm; el extremo posterior forma una pequeña espiral y la bolsa copulatriz está muy poco desarrollada o carece de ella. Las

espículas miden entre 150 y 180 μm , son curvas con la mitad proximal alada y la distal divide en 2 ramas, que terminan en puntas afiladas.

Las hembras miden de 1,8 a 3 cm de largo. La vulva se encuentra cerca del ano y tiene un pequeño repliegue cuticular en su borde posterior.

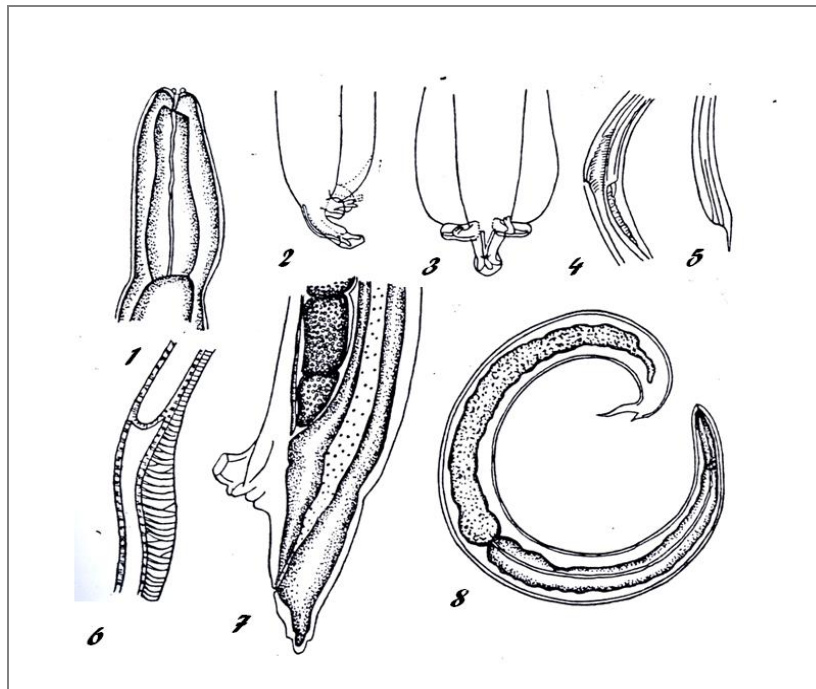
Muellerius tenuispiculatus, Gebauer (1932).

Localización: alvéolos y parénquima pulmonar.

Hospedadores: **rebecos**.

Los machos miden entre 1 y 3 cm de largo por 170-190 μm de ancho. La longitud del esófago es de 170-190 μm . Las espículas miden entre 720 y 750 μm de largo y presentan la misma estructura que las de *Muellerius capillaris*.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de las hembras de ***Muellerius tenuispiculatus***.



1. Extremo anterior. 2. y 3. Extremo posterior del macho. 4. 5. y 6. Espículas. 7. Extremo posterior de la hembra. 8. Larva.

Figura 22.- Principales estructuras morfológicas de *Muellerius tenuispiculatus*.

Género *Cystocaulus*, Schulz, Orloff y Kutass (1933).

Los nematodos de este género presentan un telamón muy reducido que consiste únicamente en una placa transversal. La bolsa copulatrix tiene las costillas dorsales bien desarrolladas y sus puntas están divididas en tres ramas cortas; además, tienen gubernáculo.

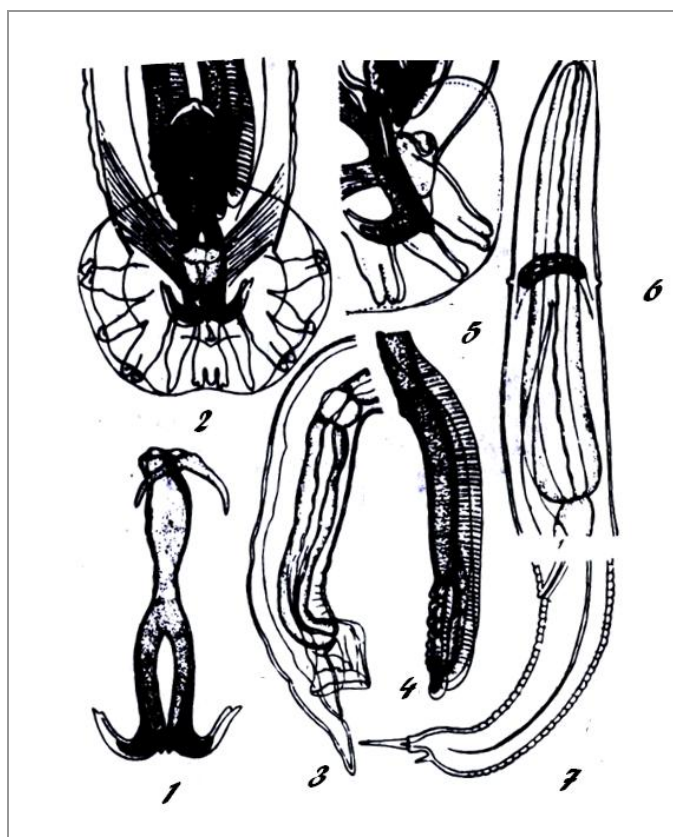
En las hembras la provagina está bien desarrollada.

Las especies más importantes son:

***Cystocaulus ocreatus*, Railliet y Henry (1907).**

Localización: bronquiolos, alvéolos y parénquima pulmonar.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres.**



1. Gubernáculo. 2. y 5. Extremo posterior del macho con espícula, gubernáculo y telamón. 3. Región de la vulva. 4. Extremo distal de la espícula. 6. Extremo anterior. 7. Extremo posterior de la larva.

Figura 23.- Principales estructuras morfológicas de *Cystocaulus ocreatus*.

Los machos miden 1,8-4,5 cm de largo; la bolsa copulatriz está bien desarrollada, pero es pequeña y sin lóbulos; las espículas son rectas e iguales. La costilla dorsal, en su extremo se divide en 3 partes. En el gubernáculo se distinguen capítulo, cuerpo y crura; esta última es de color oscuro y con forma de bota.

Las hembras miden 3,9-4,2 cm, tienen la vagina y provagina desarrolladas y esta última tiene forma de “campana”.

Cystocaulus cervi, Boev (1951).

Localización: parénquima pulmonar.

Hospedadores: **ciervos**.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de los nematodos de esta especie.

Género *Neostrongylus*, Gebauer (1932).

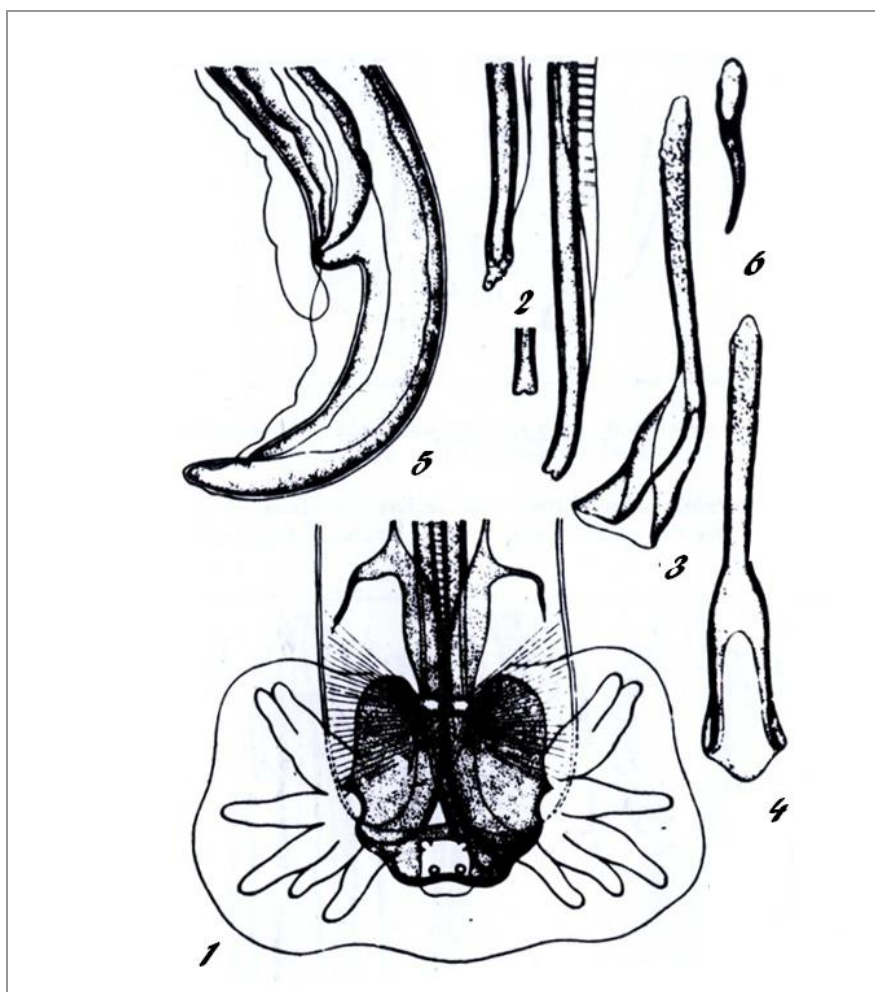
La principal especie es:

Neostrongylus linearis, Marotel (1913).

Localización: bronquios y parénquima pulmonar.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres**.

Los machos miden 5-8 mm de largo y presentan la bolsa copulatriz sin dividir. Las espículas son muy largas y desiguales y el gubernáculo consta de cuerpo y crura.



1. Extremo posterior del macho. 2. Extremo distal de la espícula 3. y 4. Gubernáculo.
5. Extremo posterior de la hembra. 6. Capítulo del gubernáculo.

Figura 24.- Principales estructuras morfológicas de *Neostrogylus linearis*.

Las hembras miden de 13 a 15 mm, la abertura anal está situada a 40-45 μ m del extremo caudal y la vulva presenta solapa vulvar muy desarrollada.

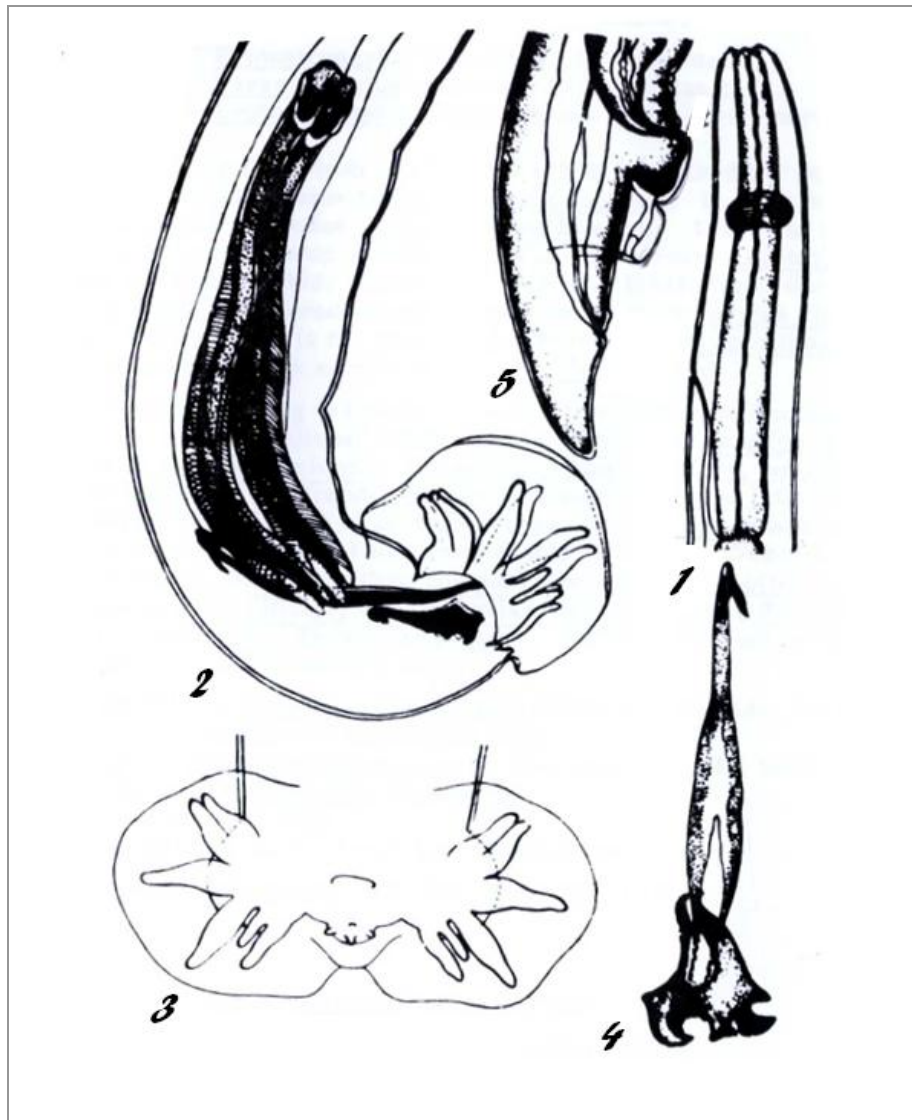
Género *Varestrongylus*, Bhalerao (1932).

Las especies más importantes son:

Varestrongylus capreoli, Stroh y Schmid (1938).

Localización: bronquiolo.

Hospedadores: ovejás, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo anterior. 2. y 3. Extremo posterior del macho. 4. Gubernáculo con capítulo, cuerpo y crura. 5. Extremo posterior de la hembra.

Figura 25.- Principales estructuras morfológicas de *Vastrestrongylus capreoli*.

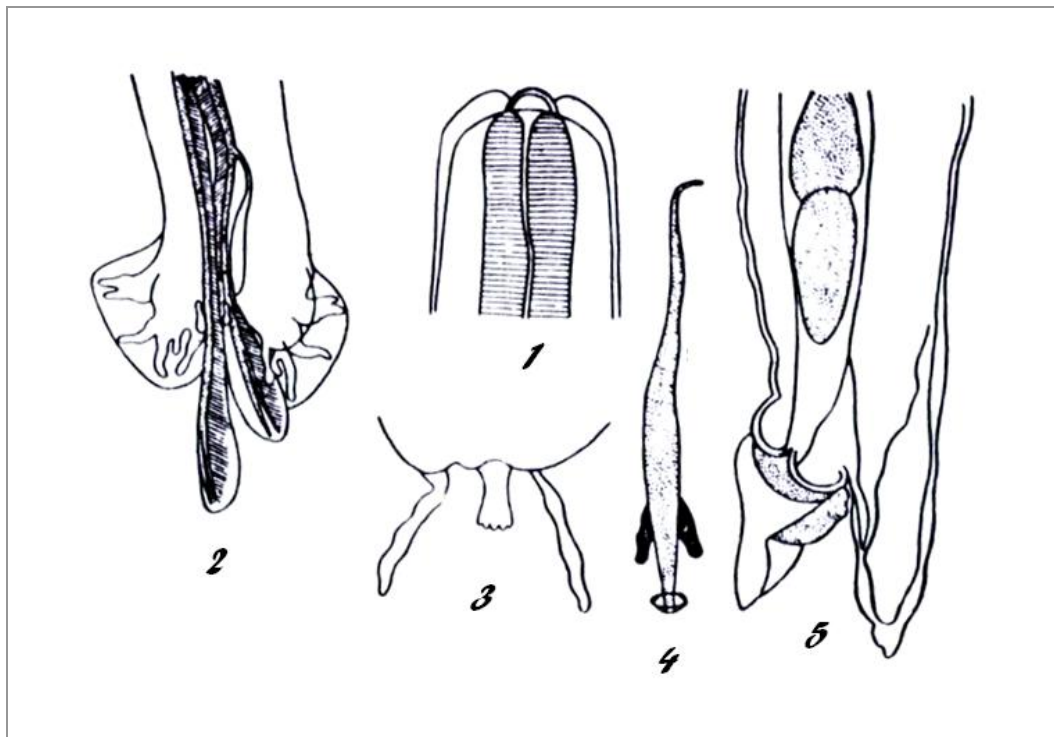
Los machos tienen la bolsa bilobulada, la costilla dorsal corta y con 4 pequeñas papilas. La costilla externodorsal es adyacente a las laterales y la costilla posterolateral es la más pequeña. El gubernáculo es complejo, con la crura corta y robusta.

Las hembras presentan una provagina que mide 285-341 μm , y en su extremo final tienen una espina dorsal característica.

Varestrongylus sagittatus, Mueller (1891).

Localización: bronquios y bronquiolos.

Hospedadores: **rumiantes silvestres.**



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho. 3. Costillas dorsal y externodorsal de la bolsa. 4. Gubernáculo. 5. Extremo posterior de la hembra.

Figura 26.- Principales estructuras morfológicas de *Varestrongylus sagittatus*.

Los machos miden de 14 a 24 μm de largo. Las espículas presentan un “ala” interior con estrías transversas y un abultamiento en la punta.

Las hembras miden entre 2 y 3 cm de largo y presentan provagina.

2.2.1.2.- Ciclo biológico

Las especies de la Familia Dictyocaulidae se caracterizan por tener ciclo directo, mientras que las de la Familia Protostrongylidae es indirecto (Figura 27).

Los vermes adultos de ***Dictyocaulus*** se localizan en la tráquea y los bronquios, donde las hembras, que son ovovivíparas, ponen huevos que contienen L-I totalmente desarrolladas y son arrastrados por el epitelio vibrátil de los bronquios hacia la tráquea y con los accesos de tos, llegan al espacio nasofaríngeo, donde son deglutidas con la secreción mucosa o expulsadas al exterior con el flujo nasal. En el aparato digestivo finaliza la eclosión de los huevos y las L-I son eliminadas con las heces.

La fase externa se desarrolla en 6-7 días en condiciones adecuadas, pero puede prolongarse varias semanas. En el medio externo, en el seno de la materia fecal, las L-I se mueven lentamente y, con humedad, temperatura y oxigenación favorables, mudan dos veces; en condiciones óptimas en el laboratorio lo hacen al cabo de 5-7 días y necesitan algunos días más en la naturaleza; posteriormente, se transforman en L-II y L-III, siendo estas últimas infectantes para los hospedadores definitivo. Las L-II y L-III se mantienen en el medio a expensas de sus reservas celulares. Son de tipo estrongiliforme y en sus extremos se observan tres vainas y las células intestinales, ya desprovistas de los gránulos oscuros; su tamaño es de 0,9-2,7 mm. Las larvas son poco activas y con frecuencia se encuentran enrolladas, por lo que difícilmente se desplazan de los excrementos a la hierba; además, las que alcanzan la hierba efectúan migraciones verticales muy limitadas y utilizan frecuentemente para su dispersión un hongo del género *Pilobolus*, que crece en las heces del ganado vacuno (Urquhart et al., 1987; Díez Baños et al., 1999).

Los rumiantes ingieren las L-III con la hierba y cuando llegan al intestino delgado se liberan de las vainas protectoras y atraviesan la mucosa intestinal, pasando a la circulación linfática y alcanzando los ganglios linfáticos mesentéricos, donde a las 24 horas ya hay L-III; en ellos mudan a larvas L-IV en aproximadamente 4 días post-infección (p.i.). Posteriormente, estas larvas

llegan a los pulmones por vía linfática y sanguínea y allí se encuentran ya a la semana p.i.; desde los capilares perialveolares atraviesan los tejidos y pasan a los alvéolos y bronquiolos pulmonares, donde realizan la última muda para transformarse en L-V, aproximadamente a los 18-20 días p.i. En los bronquios y bronquiolos estas fases inmaduras se desarrollan sexualmente, y al cabo de un mes p.i, ya se observan las L-I en las heces. Así pues, el período de prepatencia es aproximadamente de 4 semanas.

Los nematodos adultos viven a expensas del abundante mucus que hay en el tracto respiratorio, y que se produce como consecuencia del proceso inflamatorio, pero son incapaces de nutrirse de sangre. Su longevidad es de unos 6 meses. Algunas L-V permanecen algún tiempo en los pulmones hasta llegar a la madurez sexual, es decir, experimentan un retraso del desarrollo de semanas e incluso meses, lo que supone un estado de inhibición larvaria que prolonga el período de prepatencia.

Los **protostrongílidos** tienen ciclo indirecto, actuando como hospedadores intermediarios (H.I.) moluscos gasterópodos terrestres (Figura 27).

Los vermes adultos se encuentran en los nódulos verminosos situados en la superficie del pulmón, están más o menos delimitados y presentan características diferentes según la especie; las hembras ponen huevos que se desarrollan y eclosionan rápidamente en los nódulos larvarios o en el árbol bronquial. Las L-I ascienden con el moco hacia la laringe, son deglutidas y, posteriormente, salen al exterior con las heces. La supervivencia de las L-I en el medio externo depende de las condiciones climáticas, especialmente de la temperatura y la humedad relativa, así como de la presencia y actividad de los moluscos gasterópodos terrestres que son sus hospedadores intermediarios. Las L-I que permanecen en la materia fecal son extraordinariamente resistentes, comprobándose que en heces ovinas secas, *Cystocaulus ocreatus* y *Muellerius capillaris* pueden sobrevivir hasta 9 y 11 meses, respectivamente. Posteriormente, las L-I penetran activamente en los H.I. que contactan con las heces, atravesando el epitelio del pie y localizándose en los tejidos conjuntivo-

muscular subepitelial y bajo el manto; allí mudan 2 veces hasta alcanzar el tercer estadio larvario (L-III) que son infectantes para los hospedadores definitivos (H.D.) durante toda la vida de los moluscos; cuando estos son ingeridos accidentalmente, en el abomaso, las L-III se liberan de sus vainas y penetran en la pared de la mucosa, fundamentalmente a nivel del ciego y las primeras porciones del colon, prosiguiendo su desplazamiento por vía linfático-vascular hacia los pulmones, pasando por el conducto torácico, corazón derecho y arterias pulmonares. Las L-IV se observan a los 8 días p.i. y las L-V a los 10 días p.i., y ya tienen dimorfismo sexual, atraviesan las paredes de los capilares y se localizan en diferentes partes del pulmón, dependiendo de la especie de protostrongílido, para, finalmente, evolucionar a adultos y madurar sexualmente (Díez-Baños *et al.*, 1999).

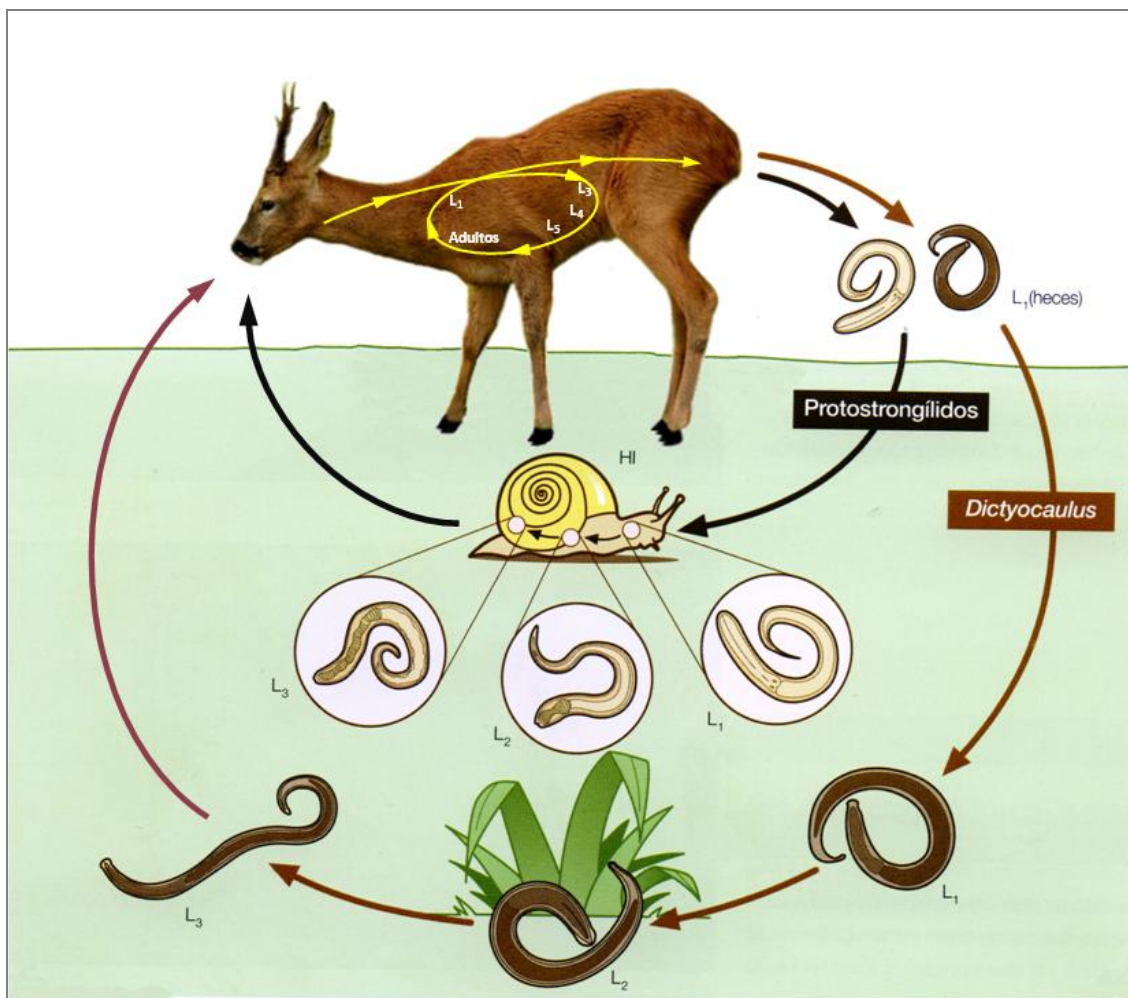


Figura 27.- Ciclo biológico de los nematodos broncopulmonares (adaptado de Valcárcel *et al.*, 2009).

La longevidad de los adultos para *Protostrongylus* spp, *M. capillaris*, *C. ocreatus* y *N. linearis* se cifra en 2, 5-6, 5 y 2 años, respectivamente. El período de prepatencia se ha señalado en 30-37 días en *Protostrongylus* spp, 38-48 días para *M. capillaris*, 40-44 días para *C. ocreatus* y 60-85 días para *N. linearis*.

2.2.1.3.- Epidemiología

Los estudios relativos a la epidemiología de los nematodos broncopulmonares en rumiantes silvestres son escasos, por lo que tomaremos como modelo los factores que influyen sobre la epidemiología de los nematodos broncopulmonares en los rumiantes domésticos; siendo los principales: las condiciones climáticas, la edad de los hospedadores y su respuesta inmunitaria, el estado fisiológico de los animales y la presencia de hospedadores intermediarios adecuados, en el caso de los protostrongílidos.

Las condiciones climáticas del medio influyen sobre la cinética de excreción de larvas y sobre la supervivencia de las larvas.

Las infecciones por ***Dictyocaulus*** son más frecuentes en áreas templadas, con abundante humedad ambiental que favorece la supervivencia de las larvas en el medio, siendo, por tanto, en primavera y al final del verano y del otoño cuando hay mayor número de larvas en los pastos, con las naturales variaciones regionales. Se consideran temperaturas y humedades relativas óptimas las comprendidas entre 10-20°C y 52-100%, respectivamente; además hay que tener en cuenta que las L-III son muy sensibles a la luz solar directa y a la desecación (Diez Baños *et al.*, 1999).

En gran parte de Europa, los rumiantes se infectan con L-I de *Dictyocaulus* al comienzo de la época de pastoreo, entre abril y mayo, a partir de larvas que sobrevivieron al invierno. Esta infección es débil, pero contribuye a aumentar la contaminación de los pastos de manera suficiente como para propiciar infecciones intensas, con síntomas evidentes y aumentar el número

de L-III que, en parte, sobrevivirán hasta el año siguiente. En España, las épocas más favorables para la infección del ganado vacuno es la primavera, para los animales nacidos en invierno y, el otoño para los nacidos en primavera, aunque este modelo puede variar en las diferentes regiones (Sánchez-Acedo *et al.*, 1996).

También tiene gran importancia epidemiológica la dispersión de larvas de *Dictyocaulus* por el hongo *Pilobolus* spp, que crece con frecuencia en las deyecciones bovinas, debido a que cuando se abre el esporangio, junto con las esporas dispersa las L-III de *Dictyocaulus*; comprobándose que la contaminación de los pastos se reduce sensiblemente cuando la presencia de *Pilobolus* es baja. También contribuye a la dispersión de las larvas, el viento, los pájaros, los neumáticos de vehículos, el estercolado, las botas de los operarios, etc. (Diez Baños *et al.*, 1999).

En las infecciones por **protostrongílidos** las condiciones climáticas también influyen sobre la supervivencia de las L-I en el medio, en especial, la temperatura y pluviosidad. Hay correlaciones significativas entre la climatología y la tasa de eliminación de L-I, coincidiendo las cifras más elevadas con épocas de máxima pluviosidad y temperaturas bajas, y las más reducidas con períodos de temperatura alta y sequía. No obstante, las variaciones climáticas no afectan por igual a todas las especies; en general, en zonas con clima continental sobreviven mejor las L-I de *Muellerius capillaris* (Morrondo *et al.*, 1988, 1992) mientras que en climas templados y húmedos, la supervivencia de la L-I de *Neostrogylus linearis* en el medio es mayor (Prieto *et al.*, 1993).

Carrillo (1992), en ovejas en pastoreo continuo en la provincia de A Coruña, observó que la eliminación de L-I de Protostrongylidae era superior entre Noviembre y Marzo, y menor entre Junio y Septiembre; asimismo, observó que la eliminación de *M. capillaris* seguía un modelo bicuspidal con un máximo en otoño y otro en primavera, mientras que el número de L-I de *N. linearis* era superior en otoño. Posteriormente, Diez *et al.* (1994) en ovinos explotados en pastoreo en la provincia de A Coruña, comprobaron que la prevalencia e intensidad de infección era mayor en los meses más fríos

(40,9%; 12,3 lpg) que en los más cálidos (21,9%; 0,7 lpg); asimismo, Cienfuegos *et al.* (2007) señalaron que el porcentaje de animales que eliminaban larvas de protostrongídeos y los valores medios de eliminación de larvas eran superiores en primavera (48,5%; 88 lpg) que en otoño (44,9%; 68,8 lpg).

En relación con la edad de los hospedadores y su respuesta inmunitaria, en el ganado vacuno, debido a la respuesta inmunitaria protectora que se desarrolla frente a *D. viviparus*, los animales adultos actúan como portadores silentes, pero no tienen mucho riesgo de padecer la infección clínica; sin embargo, epidemiológicamente constituyen la principal fuente de infección para los jóvenes que pastan por primera vez y que frecuentemente desarrollan brotes clínicos (Sánchez-Acedo *et al.*, 1996), siendo estos los que eliminan mayor número de L-I. Se ha calculado que la ingestión de, aproximadamente, 200 L-III origina alrededor de 70 vermes adultos que, al cabo de 30 días, eliminan aproximadamente más de dos millones de L-I con las heces (Bascuas *et al.*, 1989).

Los adultos *D. viviparus* pueden vivir hasta 6 meses en el árbol bronquial de los animales jóvenes; además de nematodos adultos, los portadores pueden albergar larvas de desarrollo inhibido. La refrigeración de las larvas infectantes, previa administración a los rumiantes, origina la inhibición del desarrollo de L-V en los pulmones al menos durante 2 meses. En la naturaleza, este fenómeno ocurre cuando los animales ingieren L-III expuestas a bajas temperaturas al final del otoño, dando lugar a L-IV y L-V inhibidas que reanudan su actividad hacia la primavera.

En el ganado ovino y caprino infectado por *D. filaria*, se ha comprobado que en los animales adultos se desarrolla un cierto grado de inmunidad protectora que se traduce en que el ciclo interno es más lento, el período de prepatencia es más largo (50-80 días), y parte de las larvas se destruyen a su paso por los ganglios mesentéricos y el pulmón. Además, la edad de los animales, conjuntamente con la inmunidad, limita el número de L-I en heces, de forma que los adultos eliminan cifras más bajas de larvas por gramo, que los

más jóvenes (Morrondo *et al.*, 1978; 1991; Díez-Baños *et al.*, 1989; Martínez *et al.*, 1989; Garijo *et al.* (2007); Cienfuegos *et al.*, 2007).

En los protostrongilídeos, no existe una respuesta inmunitaria protectora frente a estos nematodos. En ganado ovino explotado en el Noroeste de España (Morrondo *et al.*, 1978, 1991; Díez-Baños *et al.*, 1989; Martínez *et al.*, 1989; Cienfuegos *et al.*, 2007), observaron que la excreción de L-1 de estos nematodos se incrementaba con la edad de los animales; no obstante, la eliminación de las larvas varía con las especies de Protostrongylidae; en este sentido, Reguera *et al.* (1979, 1996) observaron que la prevalencia y las cifras de eliminación de *Cystocaulus ocreatus* eran similares en los animales jóvenes y en los adultos, mientras que el porcentaje de ovinos que eliminaban L-I de *Muellerius capillaris* y *Neostrongylus linearis* era superior en los de mayor edad.

El estado fisiológico de los animales, como la gestación, períodos de parto y lactación, estrés, nutrición deficiente, etc., también influye sobre el ritmo de eliminación de las L-I de protostrongilídeos.

La presencia de hospedadores intermediarios adecuados es un factor de gran importancia en las infecciones por protostrongilídeos. Es conocido que muchas especies de moluscos actúan como H.I., aunque no todas ellas son igualmente idóneas para el desarrollo de L-III infectantes (Morrondo, 1985; Manga *et al.*, 1986).

El desarrollo de las larvas en los moluscos no es simultáneo, de modo que en un mismo caracol se encuentran distintos estadios de desarrollo, al tiempo que puede hallarse infectados por varias especies de nematodos pulmonares. El desarrollo larvario de *Muellerius capillaris* y *Neostrongylus linearis* en hospedadores intermediarios adecuados fue más lento en los meses fríos (60 días p.i.) que en los cálidos (15-20 días p.i.). El máximo de L-III por molusco de ambos parásitos se obtuvo entre finales de primavera y otoño, de modo que este período entraña mayor riesgo de infección para los hospedadores definitivos (Morrondo *et al.*, 1987, 1988). No obstante, en el noroeste de España señalan que H.I. como *Cernuella (Xeromagna) cespitum*

arigonis, *Cochlicella barbara* y *Cernuella (Cernuella) virgata*, permanecen activos durante todo el año, por lo que si albergan L-III la infección de los hospedadores definitivos es posible en cualquier época del año (Morrondo *et al.*, 1987, 1988, 1992, 2005; López *et al.*, 1997, 1998). Además, estos autores comprobaron en condiciones experimentales y naturales que la infección de los H.I. por larvas de protostrongílidos no afecta a su actividad normal ni aumenta su mortalidad.

Manga y Morrondo (1982) comprobaron que catorce especies de Helicidae de las 23 recogidas en diversas zonas de la provincia de León, estaban infectadas naturalmente por larvas de Protostrongylidae, siendo además, las más frecuentes en las zonas en las que pastaba el ganado ovino. Las especies de caracoles que albergaban mayor número de larvas de *Muellerius capillaris*, *Cystocualus ocreatus*, *Neostrongylus linearis* y *Protostrongylus* spp fueron *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis*, *Helicella (Helicella) itala* y *Helicella ordunensis*, así como las babosas *Milax (Milax) gagates*, *Deroceras agreste*, *Arion* spp y *Deroceras reticulatum*; concluyendo que las especies de moluscos de menor tamaño y, en especial, las babosas al carecer de concha, son las que ingieren más fácilmente los hospedadores definitivos, por lo que debe considerarse su importancia epidemiológica en la transmisión de los protostrongílidos.

2.2.1.4.- Manifestaciones clínicas

En las infecciones por ***Dictyocaulus*** dependiendo del número de L-III ingeridas y especialmente en las primoinfecciones, se observa pérdida de apetito y de ganancia de peso.

Los primeros síntomas se aprecian a los 10-12 días p.i. y coinciden con la fase prepatente de la infección, en la que las larvas migran y bloquean los pequeños bronquios y bronquiolos y, más tarde, obstruyen los alvéolos distales (Maarten, 1994; Taylor *et al.*, 2007). Durante los primeros días de la fase de prepatencia, los síntomas son polipnea, disnea y respiración abdominal. En la

segunda y tercera semana, aparece la tos y se incrementa el ritmo respiratorio por minuto, disminuye el apetito y la disnea se intensifica; la respiración es acelerada, profunda, silbante y fatigosa, a veces con episodios de sofoco; la postura es característica, con las extremidades separadas, cabeza extendida, boca abierta y orificios nasales dilatados, con la lengua caída y expresión angustiosa. Algunos animales mueren a partir de los 15 días p.i. a causa de la insuficiencia respiratoria y como consecuencia del enfisema intersticial agudo y del edema pulmonar, aunque si no surgen complicaciones, se recuperan progresivamente después de la crisis respiratoria. Durante esta fase, los animales más jóvenes manifiestan taquipnea y tos. Al final de la misma hay bronquitis, mucus espumoso y nematodos adultos inmaduros (Bascuas *et al.*, 1989).

Los signos clínicos de la fase patente responden a la neumonía parasitaria y a la consolidación de los lóbulos pulmonares (Maarten, 1994). La tos es seca y no es constante, presentándose sólo tras el ejercicio intenso; generalmente, no hay exudado nasal y cuando aparece, como consecuencia de los abscesos de tos, es mucoespumoso o mucopurulento y de color amarillento o verdoso. En casos de infección intensa hay marcada taquipnea, hiperapnea, anorexia, salivación y la postura típica ya citada. A la auscultación se aprecian sonidos característicos de bronquitis con aumento de ruido bronquial, estertores y sibilaciones, más acusadas en los lóbulos inferiores, que son los más afectados por el enfisema pulmonar. A la percusión hay zonas de matidez y submatidez. El apetito sigue disminuido, con pérdida de peso, piel seca y deslustrada y mal estado general. La elevación de la temperatura rectal es signo de complicaciones bacterianas (Urquhart, 1985).

En la fase pospatente, sobre todo después del tratamiento, los animales se recuperan gradualmente y al cabo de varias semanas remiten las manifestaciones clínicas. El ritmo respiratorio se normaliza, la tos es menos frecuente y recuperan el peso. Sin embargo, un pequeño porcentaje de bovinos convalecientes padecen alteraciones respiratorias marcadas, que provienen de la epitelización alveolar. Si se produce una recaída, los animales pueden morir

como consecuencia de un cuadro respiratorio-cardíaco grave, que se ha descrito como «bronquitis verminosa pospatente» (Maarten, 1994).

En bovinos de entre 18 y 24 meses y en adultos, pequeñas reinfecciones dan lugar a un síndrome atípico asmático, que se asemeja a la llamada «fiebre del heno». En este caso, las L-III que acceden a los bronquiolos son destruidas por la respuesta inmunitaria y originan intensa proliferación celular alrededor de ellas y la consiguiente obstrucción bronquiolar, con aparición de nódulos pulmonares linfoides de unos 5 mm de diámetro (Euzeby, 1961). La respuesta inmunitaria parcial a la reinfección determina que las larvas mueran más tardíamente y ocasionen bronquitis obstructiva, asociada a exudado cuantioso con eosinófilos, acompañada de hiperventilación y traqueobronquitis crónica. Así pues, en este caso, la sintomatología se acentúa debido a las lesiones que se suman a las de los pulmones afectados previamente, a pesar de que no se evidencien L-I en las heces.

No obstante, la mayoría de los animales están poco afectados, presentando episodios de tos profunda y seca tras el esfuerzo; a la auscultación se perciben ruidos subcrepitantes y silibantes en la parte posterior de los lóbulos pulmonares. Los animales que están afectados tienen taquipnea, con más de 80 movimientos por minuto, disnea y frecuentemente, adoptan la postura típica con la cabeza baja y el cuello muy extendido y las extremidades anteriores muy separadas. La salivación es intensa, hay anorexia y a veces ligera hipertermia, estando más afectados los más jóvenes.

La bronconeumonía verminosa en los animales adultos es menos frecuente y sólo se presenta cuando los bovinos no se han infectado previamente y se exponen a infecciones intensas por L-III al estar en parcelas aprovechadas previamente por animales infectados por *D. viviparus*. En estos casos la fase más frecuente es la patente, aunque también son posibles otros cuadros; además de tos, disnea y taquipnea, hay disminución de la producción de leche (Urquhart, 1985; Bowman *et al.*, 2011).

En el ganado ovino y caprino afectado por *Dictyocaulus filaria* también se observa taquipnea, disnea, anorexia y pérdida de peso. Los animales jóvenes, a las pocas semanas de la infección, tosen y expectoran abundante moco que contiene larvas, huevos, o ambos, y en ocasiones nematodos adultos. En la forma aguda, el flujo es muy abundante, al principio es mucoso y después mucopurulento y, cuando se seca, forma costras que obstruyen los orificios nasales. En infecciones intensas se advierten síntomas de una bronconeumonía con respiración acelerada, tos seca y estertores crepitantes. En infecciones naturales no son frecuentes las muertes, porque hay expulsión gradual de adultos, aunque las infecciones mixtas con protostrongídeos y con nematodos intestinales, agravan el estado de los animales.

Las infecciones por **protostrongídeos** cursan con sintomatología inaparente, especialmente las moderadas y en muchas ocasiones pasan desapercibidas. Tras infecciones repetidas y si ingieren muchas L-III, se aprecia tos seca y ronca, especialmente después de un ejercicio intenso; el estado general empeora y en los pulmones debilitados se producen neumonías secundarias. El cuadro clínico no es unívoco para todas las especies (Poynter, 1963; Díez-Baños *et al.*, 1999; Taylor *et al.*, 2007; Bowman *et al.*, 2011).

La muelleriosis, frecuente en cabras mayores de 2-3 años y cuando la infección es intensa, cursa con neumonía intersticial aguda y manifiestan disnea y tos continua. En corderos de más de 6 meses, *M. capillaris* da lugar a retraso del crecimiento y disminución de la condición corporal, acompañados también de signos respiratorios, entre los que cabe mencionar hiperpnea y respiración abdominal, con tos frecuente, seca y ronca y, a veces, con espasmos y asfixia. A la auscultación no es fácil localizar los focos neumónicos y no se aprecia hipertermia. En infecciones naturales, la muelleriosis ovina y caprina suele ir asociada a otras parasitosis intestinales o hepáticas, al tiempo que los animales están más predispuestos a padecer otras enfermedades infecciosas.

Las infecciones por *Protostrongylus* spp se asemejan, dada su localización, a la dictiocaulosis; se aprecia abundante mucosidad nasal, con pérdida de peso y alteraciones respiratorias intensas; a veces, sobrevienen complicaciones debido a infecciones bacterianas secundarias; no obstante, Rojo (1975) comprobó que, en general, en las áreas del pulmón en las que había adultos o larvas de protostrongílidos no se observaba un crecimiento mayor de bacterias aerobias que en las áreas no afectadas.

2.2.1.5.- Diagnóstico

Las bronquitis verminosas se pueden diagnosticar mediante examen post mortem, técnicas coprológicas e inmunológicas y diagnóstico clínico-epidemiológico.

En el examen post mortem las infecciones por *Dictyocaulus* se caracterizan por la presencia de bronquitis y bronquiolitis catarral purulenta, áreas de consolidación rojizas en los lóbulos caudales, enfisema y atelectasias originadas por obstrucción. Además, al efectuar raspados del epitelio de la tráquea y bronquios se observan huevos, L-I, o ambos. Los adultos se localizan en la luz de la tráquea, bronquios y bronquiolos, en los que se aprecia una gran cantidad de mucus; sin embargo, en fases prepatentes, las formas inmaduras sólo se observarán al examinar el mucus bajo estereomicroscopio. En las fases pospatentes de las infecciones, es más difícil el diagnóstico, porque ya no hay adultos, aunque las lesiones que sobresalen superficialmente en relación con el parénquima normal, permiten sospechar de la infección.

En el inicio de la infección y en la fase aguda hay que recurrir al examen microscópico de cortes histológicos de las zonas lesionadas o del líquido edematoso pulmonar.

No obstante, en las infecciones por *Dictyocaulus* en ganado vacuno, se debe realizar un diagnóstico diferencial respecto a otros procesos esporádicos propios de épocas frías y que cursan con menos tos y disnea y con elevación

de temperatura; así como, de infecciones bacterianas como pasterelosis o tuberculosis y víricas que cursen con manifestaciones respiratorias agudas como la DVB (diarrea vírica bovina) o el IBR (rinotraqueítis infecciosa bovina), etc.

En la dictiocaulosis ovina y caprina hay que efectuar un diagnóstico diferencial respecto de otras neumopatías que cursan con manifestaciones clínicas similares, para lo que hay que considerar el diagnóstico clínico-epidemiológico, la edad de los animales afectados y la respuesta ante los tratamientos antiparasitarios.

En las **protostrongilidosis** se observan lesiones pulmonares características, entre las que se incluyen los “nódulos verminosos y los de cría” que sobresalen de la superficie pulmonar y albergan huevos y L-I que se pueden observar mediante raspado y posterior observación al microscopio o realizando una migración larvaria con el tejido pulmonar en el que se observan las lesiones. No obstante, las lesiones originadas por los diferentes géneros son bastante características; así, por ejemplo, los nódulos verminosos de *Cystocaulus ocreatus* son fácilmente visibles, de color marrón oscuro y muy delimitados, dando la imagen típica de un perdigón, mientras que los de *Muellerius capilaris* son más grisáceos y duros y los de *Protostrongylus* tienen aspecto de mosaico.

Para obtener los adultos se puede utilizar la perfusión de líquido a presión en el pulmón que permite recuperar ejemplares adultos y juveniles, pero no las larvas ni la mayoría de los estadios inhibidos, por lo que es aconsejable la combinación de la perfusión y la posterior migración larvaria (Eysker *et al.*, 1990).

Entre las técnicas coprológicas destaca la de migración larvaria que permite obtener las L-I; las muestras fecales deben tomarse directamente del recto de un número representativo de animales del rebaño. La sensibilidad de este método es alta, pero debido al periodo de prepatencia de estos nematodos, las larvas no se observan como mínimo hasta que transcurren 30

días p.i. Además, como sucede con otras infecciones parasitarias, los resultados de la coprología no son concluyentes, si se considera que el número de larvas hallado en heces no siempre se correlaciona directamente con la carga parasitaria; existen, además, considerables variaciones, incluso diarias, en la eliminación de L-I, cuya discontinuidad se explica por diversos factores, como la edad de los animales, la consistencia de las deyecciones por el régimen alimenticio y, sobre todo, la diferente localización de los parásitos adultos, así como diferencias apreciables en su capacidad de reproducción y longevidad (Díez-Baños *et al.*, 1999). No obstante, se admite que 40-50 larvas por gramo (lpg) se corresponden con infecciones débiles, mientras que cuando se contabilizan más de 100 lpg se puede considerar que la infección es intensa.

Las características del extremo final de las larvas, observadas al microscopio (400x), previa inactivación con lugol, permiten diferenciar los especies; lo que permite diferenciarlas de otras de nematodos de vida libre y de las de los nematodos gastrointestinales.

Las principales técnicas inmunológicas son la fluorescencia, hemoaglutinación indirecta, fijación de complemento y especialmente el ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). El ELISA indirecto utilizando antígenos somáticos y purificados es útil para valorar el nivel de anticuerpos frente a *D. viviparus* sobre todo en estudios epidemiológicos porque permite identificar seroconversión en infecciones naturales a las 4-5 semanas p.i., pero no son aplicables a terneros vacunados artificialmente. No obstante, las posibles reacciones cruzadas con otros parásitos y cierto grado de inespecificidad y sensibilidad, todavía son inconvenientes para el diagnóstico inmunológico, aunque la especificidad y sensibilidad del ELISA indirecto aumenta considerablemente al emplear antígenos recombinantes, constituyendo así una alternativa ventajosa al método coprológico clásico (Tenter *et al.*, 1993; Von Holtum *et al.*, 2008)

Finalmente, hay que tener en cuenta el diagnóstico clínico-epidemiológico; como se señaló anteriormente, hay que tener en cuenta el carácter estacional y las manifestaciones clínicas de la **dictiocaulosis**,

especialmente en el ganado vacuno. Se debe sospechar de estas infecciones, en particular en áreas endémicas (Kaufmann, 1996), en animales jóvenes que han salido por primera vez al pasto en primavera o final del verano y que tienen tos, disnea, taquipnea, pero no hipertermia; en caso de reinfección, los adultos presentan disnea y tos poco intensa.

En el ganado ovino y caprino, se pueden encontrar huevos y L-I de *Dictyocaulus filaria* en las descargas nasales y exudados traqueales, aunque los resultados negativos no son concluyentes.

La escasa sintomatología que presentan las infecciones por **protostrongídeos**, hace que el diagnóstico clínico no sea demasiado útil; no obstante, si se tiene en cuenta los diferentes factores epidemiológicos que hemos señalado anteriormente, nos permite sospechar de estas infecciones en el conjunto del rebaño; no obstante, para confirmar las infecciones por nematodos broncopulmonares es necesario recurrir al examen postmortem o a las técnicas coprológicas.

2.2.1.6.- Prevalencia de nematodos broncopulmonares en corzo

En este apartado, haremos referencia a los escasos estudios que hemos encontrado sobre la prevalencia e intensidad de infección de por nematodos broncopulmonares en corzos abatidos en **EUROPA**.

La prevalencia de infección por *Dictyocaulus* en los diversos países europeos es, en general, baja e inferior a la de los protostrongídeos.

En **RUMANIA** Stoican y Olteanu (1959) hallaron parasitados entre el 25 y el 50% de los animales, mientras que en otros países del Norte de Europa las prevalencias señaladas son sensiblemente inferiores: 10% en corzos abatidos en **LITUANIA** (Kazlauskas y Puzauskas, 1974), 12,5% en los procedentes de **BIELORRUSIA** (Shimalov y Shimalov, 2003) y 14,7% en los de **SUECIA** (Divina *et al.*, 2002).

En otros países centroeuropeos la prevalencia también es baja: 6% en **HOLANDA** (Borgsteede *et al.*, 1990); además en este país, Jansen (1992) señaló la presencia de adultos de *Dictyocaulus eckerti* y *Varestrongylus capreoli*, aunque no señala porcentajes de infección. En **FRANCIA** (Hugonnet y Cabaret, 1987) observaron que el 17% de los corzos estaban infectados por *Dictyocaulus*.

En **ESPAÑA**, Carrillo *et al.* (1994) realizaron la primera descripción de adultos de *D. noerneri* (= *D. eckerti*) en corzos abatidos en la provincia de Lugo. Posteriormente, Díez-Baños *et al.* (1995) y Panadero *et al.* (2001) observaron que entre el 12,8 y el 14,8% de los corzos abatidos en diferentes áreas de la provincia de Lugo albergaban adultos de *D. noerneri*, siendo la cifra media de ejemplares por animal de 16,9 y 14,4, respectivamente.

No obstante, la mayoría de los trabajos se refieren a la observación de **larvas de *Dictyocaulus* en tejido pulmonar o en heces.**

En estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010) al realizar migraciones larvarias de **tejido pulmonar**, observamos que entre el 16 y el 20% de los pulmones había L-I, pero las cifras medias eran muy bajas (2 a 4 lpg).

Al considerar la **edad** de los corzos, Dacal *et al.* (2010) comprobaron que en el tejido pulmonar de los más jóvenes el porcentaje de infección (24,4%) y cifras medias de larvas por gramo de pulmón ($\bar{x} = 5$ lpg) eran ligeramente superiores a los de mayor edad (18,4%; $\bar{x} = 3$ lpg).

En muestras de **heces** de corzos abatidos en Galicia (Morrondo *et al.*, 2008, 2009; Vázquez *et al.*, 2009 b, 2010) observamos que en el 26% de los animales se hallaron larvas de *Dictyocaulus* y que las cifras medias eran bajas ($\bar{x} = 14$ lpg).

En los diversos trabajos realizados, se señala que la prevalencia de infección por **PROTOSTRONGÍLIDOS** es superior a la de *Dictyocaulus*.

Debido a la dificultad para extraer los adultos de esta familia que, están albergados en el parénquima pulmonar, la mayoría de los trabajos se refieren a la observación de **larvas en tejido pulmonar o en heces**.

Dentro de esta familia, los géneros más específicos de este cérvido son *Varestrongylus*, *Muellerius* y *Protostrongylus*.

En la **REPUBLICA CHECA**, Tomanek (1967) observó que el 78% de los corzos estaban parasitados por protostrongílicos.

En **POLONIA**, Kozakiewicz *et al.* (1986), Demiaszkiewicz *et al.* (1987), Drózd (1992); Misiewicz y Demiaszkiewicz (1993), Misiewicz (1994) y Cisek *et al.* (2003) en análisis coprológicos observaron que el 53,3%; 44%; 83,3%; 25%; 36,4% y 40,5% de los corzos eliminaban larvas de *Varestrongylus capreoli*, respectivamente.

En **ESPAÑA**, Navarrete *et al.* (1990) obtuvieron prevalencias del 16% para *Muellerius capillaris* en corzos de la provincia de Córdoba e Hidalgo *et al.* (1999), en la provincia de Zamora, señalaron que el 27% de los corzos estaban infectados por *V. capreoli*; además, estos últimos autores señalaron que las cifras medias de eliminación eran bajas (7,5). Reina *et al.* (1992) observó larvas de *M. capillaris* en el 25% de los corzos sacrificados en la provincia de Cáceres.

En corzos abatidos en **Galicia**, Carrillo *et al.* (1995), hicieron la primera descripción de *Varestrongylus capreoli*, comprobando que en el 82% de los animales se observaban lesiones compatibles con infecciones por este nematodo; el 33% de los corzos albergaban una media de 4 adultos por animal y en el 53% hallaron L-I con una media de 181 lpg. Posteriormente, Panadero *et al.* (2001) observaron que en el 35,8% de los pulmones había lesiones

compatibles con *V. capreoli* y extrajeron una media de 6 adultos por pulmón; en el 49% de los animales hallaron L-I de este parásito, siendo las cifras medias de 184 lpg.

En estudios posteriores (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010) hallaron lesiones de *V. capreoli* en el 90,3% de los pulmones y observaron que en el 51% del **tejido pulmonar** había L-I con una media de 3,6 lpg.

Al considerar la edad de los corzos, Dacal *et al.* (2010) comprobaron que los más jóvenes presentaban mayor porcentaje (40%) y cifras medias ligeramente superiores de larvas por gramo de pulmón ($\bar{x} = 5$ lpg) que los de mayor edad (33%; ($\bar{x} = 3$ lpg)).

Al analizar las **heces** de los corzos (Morrondo *et al.*, 2008, 2009; Vázquez *et al.*, 2009 b, 2010), observamos que en el 45% de los animales se identificaron larvas de *V. capreoli* aunque las cifras medias de larvas por gramo de heces eran muy bajas (4 lpg).

Finalmente, Dacal *et al.* (2010) al estudiar la posible relación entre las infecciones por nematodos broncopulmonares sobre la capacidad pulmonar de los corzos, concluyeron que el perímetro torácico de los corzos parasitados era menor que el de los no infectados y que la acción patógeno de estos parásitos influye negativamente sobre su capacidad pulmonar al reducir la superficie de intercambio gaseoso.

Diversos autores en ganado ovino explotado en el Noroeste de España (Morrondo *et al.*, 1978, 1991; Díez-Baños *et al.*, 1989; Martínez *et al.*, 1989), observaron que la excreción de L-I de Protostrongylidae se incrementaba con la edad de los animales; según estos autores, debido a la falta de inmunidad que caracteriza a las infecciones por estos nematodos, para que el número de larvas que excreten los animales sea elevado es necesario que los animales hayan salido a los pastos dos o más temporadas; no obstante, debemos

señalar que, en el presente estudio, los corzos más jóvenes ya habían pastado durante 2 temporadas. Además, hay que tener en cuenta que la prevalencia e intensidad de eliminación varía según las especies de Protostrongylidae; en este sentido, Reguera *et al.* (1979) observaron que la prevalencia y las cifras de eliminación de *Cystocaulus ocreatus* eran similares en los animales jóvenes y en los adultos, mientras que el porcentaje de ovinos que eliminaban L-I de *Muellerius capillaris* y *Neostromylus linearis* era superior en los de mayor edad.

2.2.2.- Nematodos gastrointestinales de los rumiantes

En las infecciones producidas por estos nematodos en los rumiantes, en general, están ocasionadas por dos o más géneros y varias especies, por lo que se denominan «gastroenteritis parasitarias».

Las familias a las que pertenecen los principales géneros de nematodos gastrointestinales que parasitan a los rumiantes son: **Trichostrongylidae** (*Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Spiculoptera*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Marshallagia* y *Haemonchus*), **Molineidae** (*Nematodirus*), **Ancylostomatidae** (*Bunostomum*), **Capillaridae** (*Capillaria*), **Trichuridae** (*Trichuris*) y **Chabertidae** (*Chabertia* y *Oesophagostomum*).

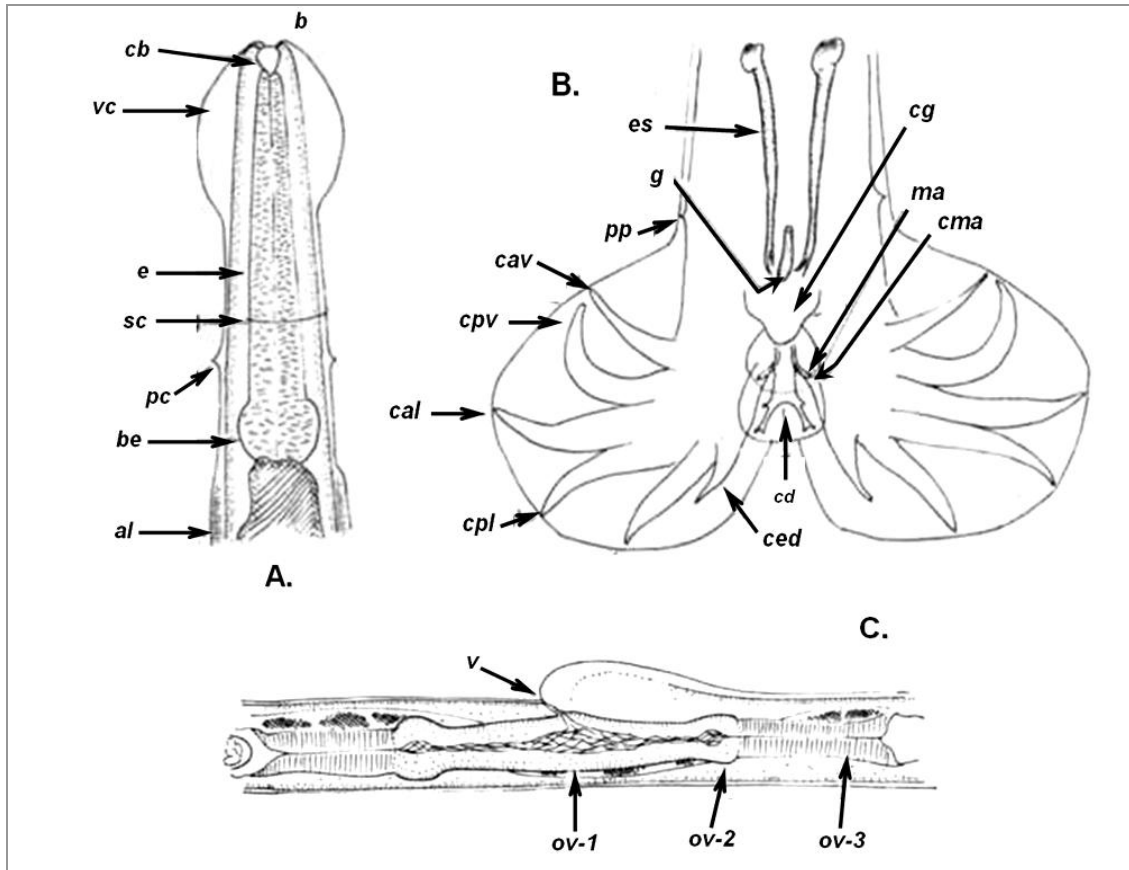
2.2.2.1.- Etiología

Los nematodos gastrointestinales son vermes filiformes y su tamaño es pequeño (3-4 cm de longitud). Por lo general, exceptuando *Chabertia*, *Bunostomum* y *Oesophagostomum*, carecen de cápsula bucal o está poco desarrollada. La cutícula puede ser lisa o estriada y algunos géneros, como *Cooperia* y *Nematodirus*, tienen expansiones cuticulares en la región cefálica (Figura 28).

El aparato reproductor está bien desarrollado y en los machos adquiere gran importancia desde el punto de vista taxonómico; el aparato genital de las hembras es doble y la vulva se localiza por lo general en el tercio posterior del cuerpo a excepción de *Trichuris* y *Chabertia* que la presentan en el tercio anterior (Figura 28); además, en algunos géneros puede existir una solapa o lengüeta vulvar.

La identificación de la especie se realiza fundamentalmente en base a la morfología de la bolsa copulatriz que consta de: 2 espículas y 3 lóbulos con sus correspondientes costillas (1 dorsal y 2 laterales). Por el contrario, la identificación específica, basada en la morfología de los órganos sexuales, de

las hembras no siempre es factible, dada la similitud de ellos dentro de las especies del mismo género (Figura 28).



A. Región de la cabeza. **B.** Extremo posterior del macho. **C.** Estructuras reproductivas de la hembra. *b* — boca; *e* — esófago; *g* — gubernáculo; *v* — vulva; *al* — ala lateral; *be* — bulbo esofágico; *cb* — cápsula bucal; *cd* — costilla dorsal; *cg* — cono genital; *es* — espículas; *ma* — membrana accesoria; *pc* — papila cervical; *pp* — papila prebursal; *sc* — surco cervical; *vc* — vesícula cervical; *ov* — ovioector; *cal* — costilla anterolateral; *cav* — costilla anteroventral; *ced* — costilla externodorsal; *cma* — costilla membrana accesoria; *cpl* — costilla posterolateral; *cpv* — costilla posteroventral.

Figura 28.- Detalles morfológicos de los nematodos gastrointestinales que permiten su identificación.

Para la descripción de los géneros y especies nos basamos en los trabajos de Skrjabin *et al.* (1954), Yamaguti (1961), Drózd (1965, 1966, 1967), Soulsby (1965), Fernández (1967), Jansen (1972), Rojo y Cordero del Campillo (1975), Durette-Desset y Chabaud (1981), Gibbons y Khalil (1982), Durette-Desset (1983, 1989), Quiroz (1984), Ferté (1987), Nogareda (1988), Díez-Baños *et al.* (1989) y Meana y Rojo (1999). Los esquemas de las principales

estructuras morfológicas de la mayoría de las especies las hemos adaptado, basándonos en los esquemas realizados por los autores antes citados.

El fenómeno del polimorfismo se presenta con frecuencia en la naturaleza (Macko, 1982) y consiste en la coexistencia en un mismo hábitat de dos o más formas discontinuas de una misma especie, en unas proporciones en las que la menos común no se puede mantener únicamente por mutación recurrente (Ford, 1972). En este sentido, la familia Trichostrongylidae es uno de los grupos de endoparásitos de rumiantes más estudiados que presentan un marcado polimorfismo (Lancaster *et al.*, 1983) y se han descrito diversos casos del mismo:

- Ostertagia ostertagi* y *Ostertagia lyrata* (Suárez y Cabaret, 1992).
- Ostertagia leptospicularis* y *Ostertagia kolchida* (Suárez y Cabaret, 1992).
- Teladorsagia circumcincta* y *T. trifurcata* (Daskalov, 1974).
- Spiculoptera spiculoptera* y *S. mathevossiani* (Liénard *et al.*, 2006).
- Haemonchus contortus* y *H. placei* (Daskalov, 1965; 1971).

Correspondiéndose cada dupla a dos morfotipos de una misma especie; el mayoritario y el minoritario, respectivamente.

2.2.2.1.1.- Familia Trichostrongylidae

Género *Ostertagia*, Ransom (1907).

Las especies de este género se localizan en el abomaso e intestino delgado y presentan un color pardo debido a la sangre parcialmente digerida que se encuentra en su intestino. Su cuerpo es filiforme, la cápsula bucal está escasamente desarrollada y el esófago es relativamente corto (460 a 840 μm). Poseen papilas cervicales, que se sitúan hacia la mitad de la longitud del esófago. El cuerpo termina en un extremo posterior corto (< 160 μm) y puntiagudo.

Los machos miden 7-9 mm y tienen una bolsa copulatriz pequeña formada por dos lóbulos laterales, uno dorsal y otro accesorio a este último. Las espículas son relativamente cortas y hacia la mitad de su longitud se dividen en tres ramas, una de las cuales siempre es más larga que las otras dos. En las diferentes especies, el gubernáculo tiene una forma y tamaño característico; además, presentan papilas prebursales.

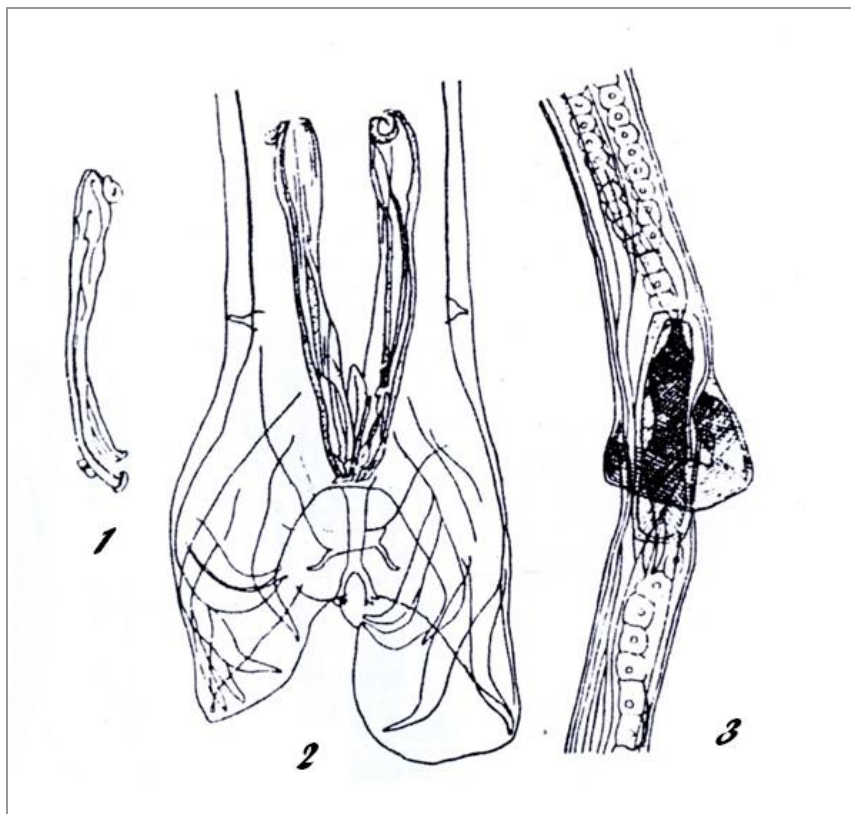
Las hembras miden 10-12 mm; la vulva se sitúa en el tercio posterior del cuerpo y la mayoría de las especies tienen solapa vulvar.

Las especies más importantes son:

Ostertagia ostertagi, Stiles (1892).

Localización: abomaso.

Hospedadores: vacas, ovejas, cabras, **corzos** y **rebecos**.



1. Espícula. 2. Extremo posterior del macho. 3. Región de la vulva.

Figura 29.- Principales estructuras morfológicas de *Ostertagia ostertagi*.

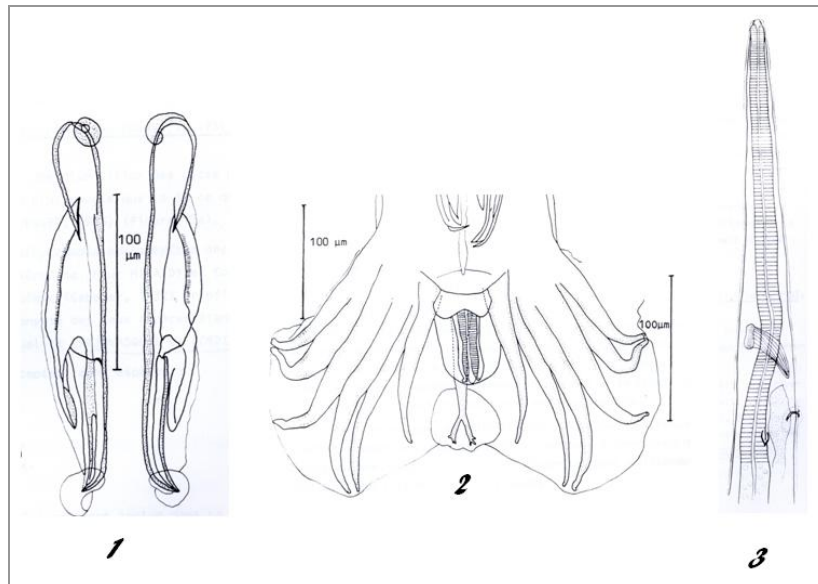
Los machos miden 6,5-7,5 mm de largo por 130 μm de ancho y su esófago tiene una longitud de 680 μm . Tienen papilas cervicales situadas hacia la mitad del esófago. La bolsa copulatriz es relativamente pequeña. La costilla dorsal es corta y se bifurca en 2 ramas cuyo extremo final termina en tres pequeñas protuberancias. Las espículas son cortas y delgadas, miden de 220 a 230 μm y se dividen en tres ramas, de las cuales la más larga y la mediana terminan en forma de botón hialino y la tercera rama es más corta y curvada. El gubernáculo tiene forma de “raya marina” y mide 40 x 14 μm .

Las hembras miden 7-9 mm x 160 μm . La vulva se encuentra en el tercio posterior del cuerpo y la solapa vulvar es similar a una “mano ahuecada”. El extremo distal es relativamente corto y termina en punta.

Ostertagia lyrata, Sjöberg (1926).

Localización: abomaso.

Hospedadores: vacas, ovejas **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Espículas. 2. Extremo posterior del macho. 3. Extremo anterior.

Figura 30.- Principales estructuras morfológicas de *Ostertagia lyrata*.

Los machos miden 7-8,5 mm x 140 μm . La longitud del esófago es de 740 μm , con papilas cervicales situadas hacia la mitad de éste. El cono genital

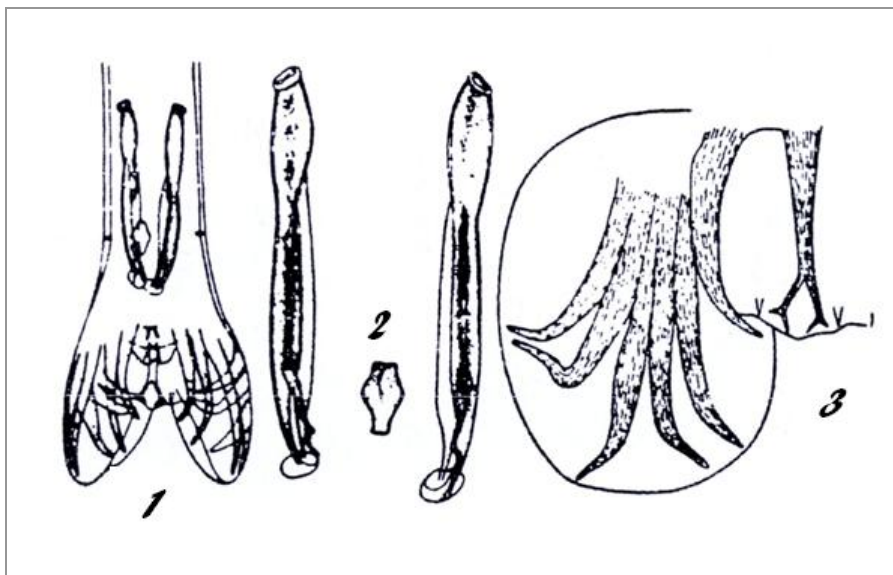
es un apéndice quitinoso con forma de lira. Las espículas miden 196-225 μm y están divididas en su parte terminal; la rama externa es la más larga y termina en punta, la rama dorsal es achatada y la ventral termina en forma cónica. El gubernáculo, está poco quitinizado y mide 63 μm .

Las hembras miden 7,5-8 mm x 100 μm , la vulva carece de solapa vulvar y la cola termina en punta presentando una pequeña expansión cuticular.

Ostertagia leptospicularis, Assadov (1953).

Localización: abomaso.

Hospedadores: **corzos**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas y gubernáculo. 3. Costillas de la bolsa.

Figura 31.- Principales estructuras morfológicas de *Ostertagia leptospicularis*.

Los machos miden 6-8 mm y el esófago 63-83 μm . La cutícula tiene estrías longitudinales algo más amplias en la parte posterior del cuerpo. Presentan papilas prebursales. Las costillas de la bolsa copulatrix muestran la morfología típica del género; la costilla dorsal se ramifica en dos ramas que se bifurcan, a su vez, en otras dos ramas más pequeñas, siendo la externa mucho más corta que la interna. La costilla posteroventral se curva antes de llegar al

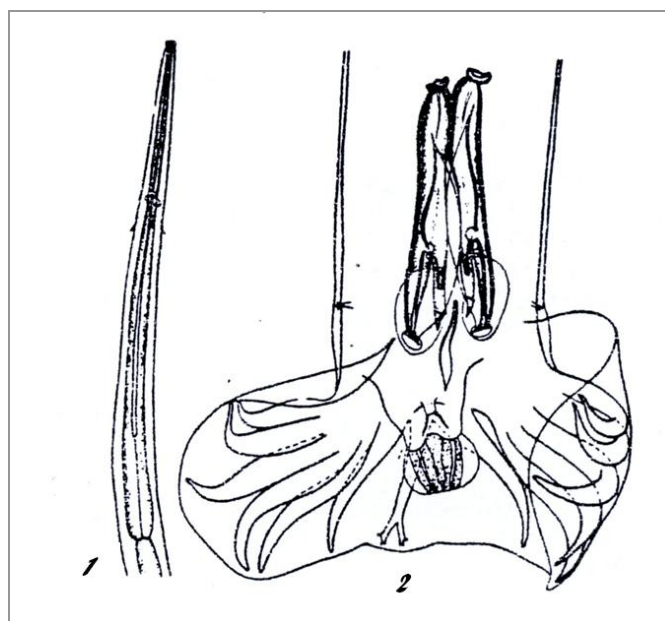
final de la costilla antero-ventral. Las espículas, de color marrón en su mitad distal y de un tono más claro en la parte proximal, miden entre 203 y 218 μm . En su parte distal, cada espícula se ramifica formando tres procesos. El proceso lateral presenta una región en forma de “zapato”, que termina en un gancho fuertemente quitinizado. El siguiente proceso es mucho más delgado y menos quitinizado, y se extiende a lo largo de la cara interna de la espícula paralelo al proceso lateral, pero de menor longitud. Los ganchos de estas dos espículas a menudo forman un semicírculo. El tercer proceso es muy fino y afilado, y se encuentra paralelo al lateral, aunque tiene menor tamaño que éste. El gubernáculo, transparente y de color amarillo, mide entre 33 y 35 μm y tiene forma de raqueta.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de la hembras de *Ostertagia leptospicularis*.

Ostertagia kolchida, Popova (1937).

Localización: abomaso.

Hospedadores: vacas, corzos.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho.

Figura 32.- Principales estructuras morfológicas de *Ostertagia kolchida*.

Los machos miden 6,2-6,8 mm x 90-100 μm en la parte más ancha de la bolsa copulatriz, y su cutícula presenta entre 18 y 20 surcos longitudinales. La longitud del esófago es de 600-800 μm . La bolsa copulatriz es trilobular, con un lóbulo dorsal de tamaño mediano y dos laterales recubiertos con formaciones cuticulares en forma de discos. La costilla antero-ventral es la más corta y su parte ventral está curvada. Las costillas antero y medio-lateral son grandes e iguales y al principio se prolongan paralelamente para después divergir. La costilla externo-dorsal es mucha más delgada que las otras dos y tiene la base más ancha. Tienen papilas prebursales. Las dos espículas son iguales y miden 140-150 x 18 μm ; distalmente se dividen en tres ramas, la medial es la más corta y está truncada y la segunda mide 40 μm y presenta el mismo ancho en toda su longitud, terminando en triángulo. La rama externa es la más larga y termina en una expansión cuticular que recubre todo el extremo distal de las espículas y que se asemeja a un "zapato". El gubernáculo, de 55 μm , es transparente y presenta membrana bursal y cono genital de forma característica.

Las hembras miden 7-7,6 mm x 50-100 μm , y su cutícula presenta entre 18 y 20 surcos longitudinales. La longitud del esófago es de 820 μm . La vulva, cuyos labios no se han desarrollado, consiste en una abertura transversal localizada a 1,19 mm de la punta de la cola. El ano está situado a una distancia de 150-170 μm del extremo distal.

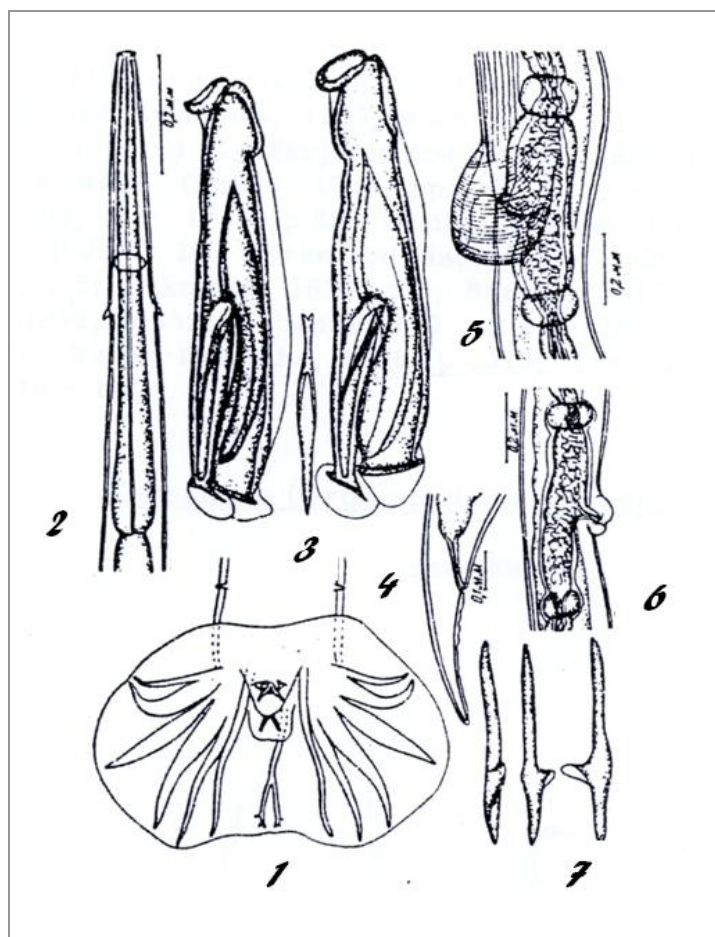
Ostertagia occidentalis, Ransom (1907).

Localización: abomaso.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **muflones**.

Los machos miden 9-16 mm x 200-240 μm . La longitud del esófago es de 820-980 μm y las papilas cervicales se disponen hacia la mitad del mismo. La bolsa copulatriz es grande y ancha (650-740 μm), con una costilla dorsal larga (300 μm) y delgada que se bifurca en el segundo tercio de su longitud y que a su vez se divide en dos ramas más pequeñas. Las espículas son largas

(290-340 μm) y se dividen en tres ramas: la dorsal es la más corta y está achatada dorsoventralmente, terminando en forma de línea oblicua; la ventral acaba en punta cónica y la lateral es la más larga, terminando doblada en punta con una formación hialina ancha. El gubernáculo, de 120 x 15-20 μm , es delgado y está poco quitinizado, por lo que es difícil de observar.



1. Extremo posterior del macho. 2. Extremo anterior. 3. Espículas y gubernáculo. 4. Extremo posterior de la hembra. 5. y 6. Región de la vulva. 7. Gubernáculo.

Figura 33.- Principales estructuras morfológicas de *Ostertagia occidentalis*

Las hembras miden 7,48-14,54 mm x 210-222 μm . La longitud del esófago es de 570-810 μm y las papilas cervicales se observan en la parte media de éste. La vulva presenta pequeños labios y prolongaciones cuticulares de formas y tamaños variables. La cola es relativamente corta (140-160 μm), y antes de terminar en punta, posee un pequeño engrosamiento con 3-4 estrías circulares.

Género *Teladorsagia*, Ransom (1907).

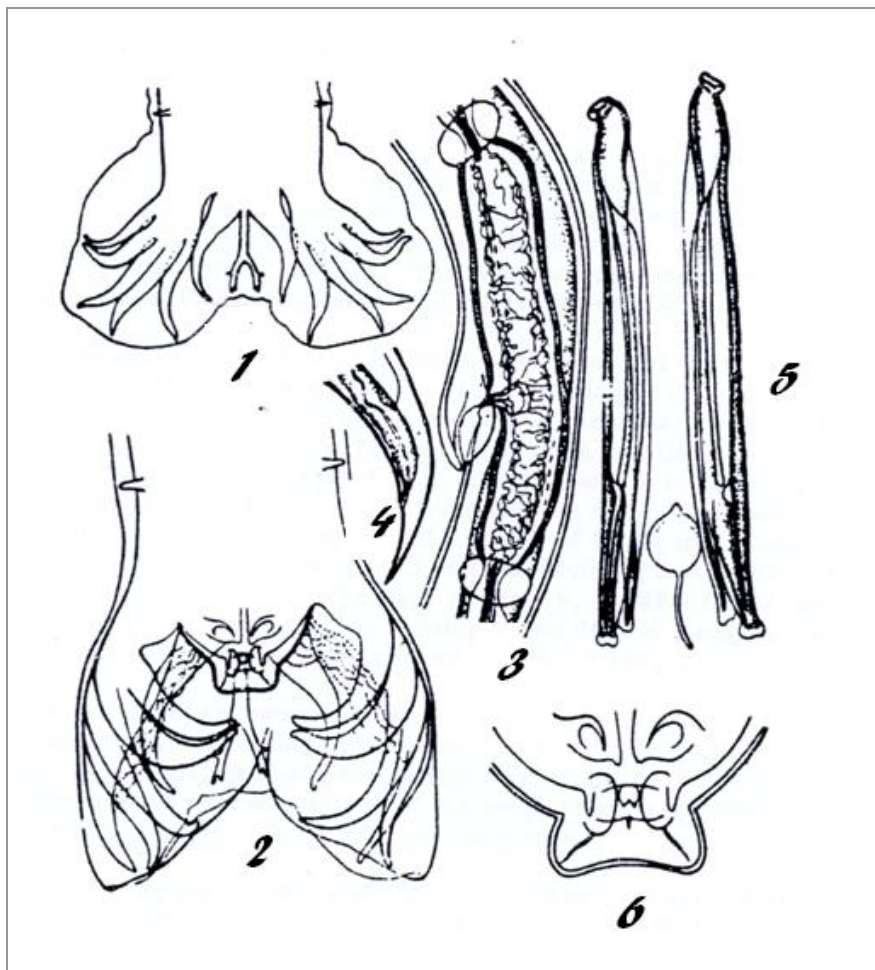
Los nematodos de este género presentan una morfología muy similar a los del género *Ostertagia*.

Las principales especies son:

Teladorsagia circumcincta, Stadelmann (1894).

Localización: abomaso.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. y 2. Extremo posterior del macho. 3. Región de la vulva. 4. Extremo posterior de la hembra. 5. Espículas y gubernáculo. 6. Cono genital.

Figura 34.- Principales estructuras morfológicas de *Teladorsagia circumcincta*.

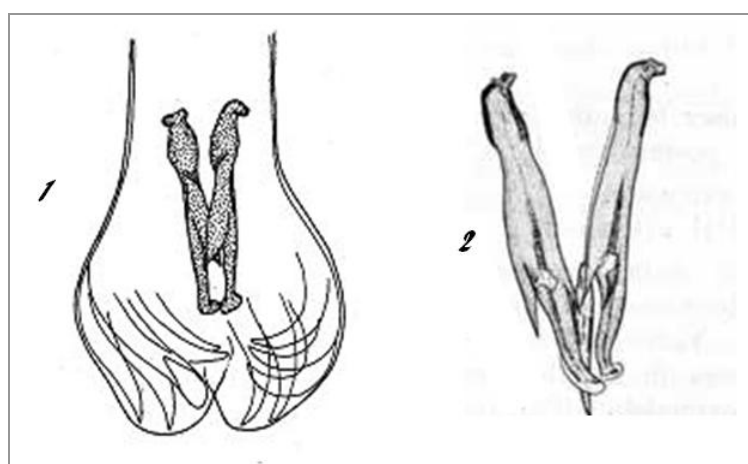
Los machos miden de 7 a 8,5 mm por 130 μm . La longitud del esófago es de 650 μm y las papilas cervicales están situadas hacia la mitad de éste. La bolsa copulatrix es similar a la de *O. ostertagi*, pero la costilla dorsal es algo más larga y bifurcada en "V", a su vez, cada una de estas bifurcaciones finaliza en una pequeña hendidura con dos puntas asimétricas; asimismo, las bifurcaciones presentan una pequeña espina en posición medial externa. Las espículas son delgadas y más largas que las de *O. ostertagi* midiendo entre 280 y 320 μm de longitud; aproximadamente en la última cuarta parte de su longitud se dividen en tres ramas, la lateral es la más larga y termina en punta roma, mientras que las otras dos terminan en punta aguda. El gubernáculo tiene una forma similar al de *O. ostertagi* pero es más ancho y mide 90 x 40 μm .

Las hembras miden 9-12 mm x 120-160 μm . La vulva, en la mayoría de los casos, está cubierta por una solapa vulvar con forma de "mano ahuecada". El extremo distal termina en punta y antes de su final se observa una pequeña dilatación circular en la que se aprecian de tres a cinco estrías circulares.

***Teladorsagia trifurcata*, Ransom (1907).**

Localización: Abomaso.

Hospedadores: ovejas, cabras y **corzos**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas.

Figura 35.- Principales estructuras morfológicas de *Teladorsagia trifurcata*.

Los machos miden 7 mm x 100 µm. El esófago es algo más corto (480 µm) que el de *T. circumcincta*, con las papilas cervicales situadas hacia la mitad del esófago. La bolsa copulatriz es similar a la de *T. circumcincta*, la costilla dorsal tiene 2 ramas en forma de "V". Las espículas, de entre 150 y 240 µm, son robustas y terminan en tres brazos, el del medio es puntiagudo y más corto que los externos, que terminan en un proceso hialino en forma de "almohadilla". El gubernáculo es alargado y mide 100 µm.

Las hembras miden 12 mm y son muy parecidas a las de *T. circumcincta* y poseen solapa vulvar.

***Teladorsagia davtiani*,**

Los nematodos de esta especie son muy similares a los de *Teladorsagia trifurcata*. La diferenciación en base a la conformación de las espículas es muy difícil, sin embargo sí difieren en el tamaño de las mismas. Así, la longitud máxima de las de *T. davtiani* es de 210 µm por 28 µm de ancho. Además el cono genital está mucho más desarrollado que en *T. trifurcata* y presenta papilas terminales.

Género *Spiculopteragia*

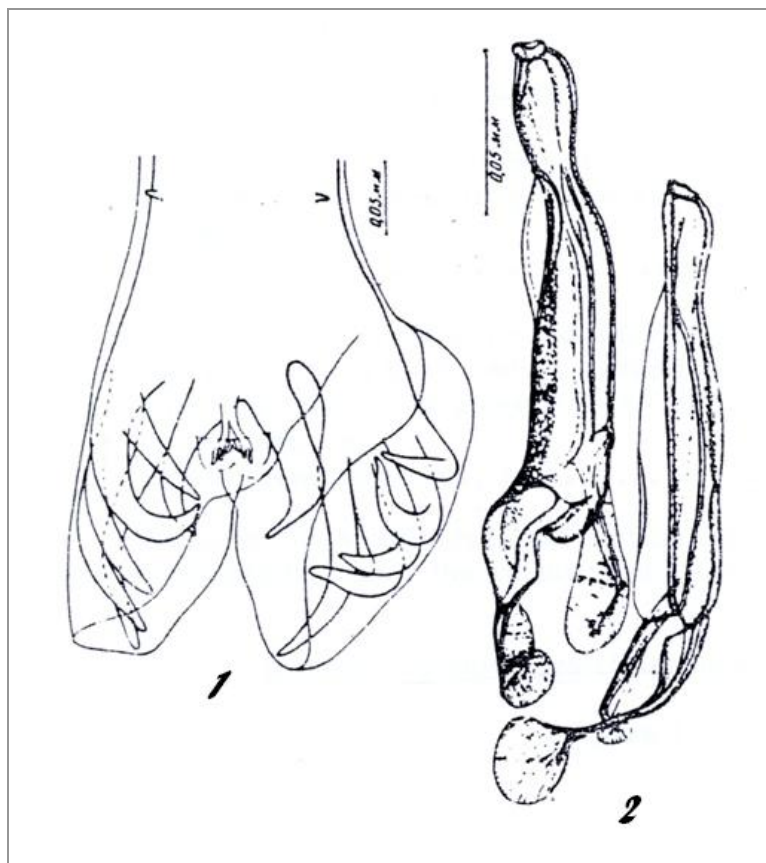
Los machos que pertenecen a este género se caracterizan por la disposición 2-2-1 de las costillas de su bolsa copulatriz, siendo la costilla número cuatro más corta que la quinta.

Las principales especies son:

Spiculopteragia spiculoptera, Gushanskaya (1931).

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas.

Figura 36.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculopteria spiculoptera*.

Esta especie se localiza fundamentalmente en abomaso aunque Hidalgo *et al.* (2010) señalan que también se observó en el intestino delgado del 22,8% de los ciervos abatidos en la provincia de León, con una intensidad media de $6,8 \pm 5,8$ vermes.

Los machos miden 8-9 mm y el esófago 780 μm . La bolsa copulatriz tiene 2 lóbulos laterales bien desarrollados y otro dorsal más pequeño. Todas las costillas se prolongan hasta el final de la bolsa, excepto la costilla dorsal que es muy corta (39 μm). Carecen de gubernáculo. Las espículas, de color marrón oscuro, miden 199 μm de longitud y terminan en forma de “abanico”, con los extremos proximales constreñidos y los distales bifurcados.

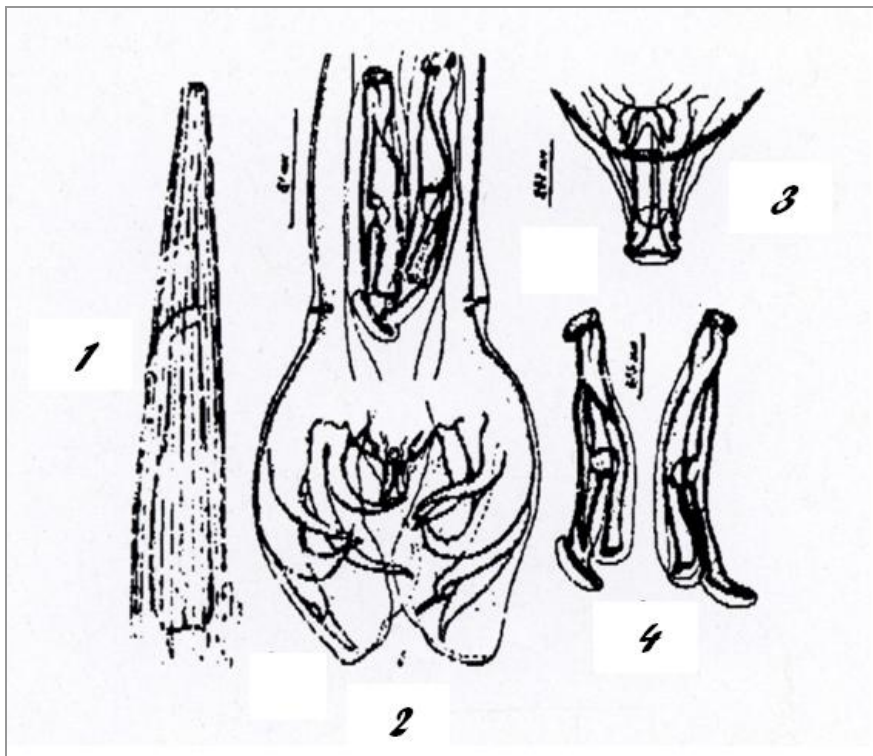
Las hembras miden 6,90-7,88 mm y su esófago 584-631 μm . La distancia del anillo nervioso al extremo anterior es de 215 y 265 μm . La vulva

se sitúa a 1,19-1,32 mm del extremo posterior, generalmente nace de un proceso en forma de botón y presentan, en la mayoría de los casos, expansión cuticular. El ano se sitúa a 125-170 μm del extremo posterior y tiene forma redondeada.

Spiculopteragia mathevossiani. Ruchlyadev (1948).

Localización: abomaso.

Hospedadores: corzos.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho. 3. Cono genital. 4. Espículas.

Figura 37.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculopteragia mathevossiani*.

Los machos miden entre 8 y 8,8 mm con una anchura máxima en la base de la bolsa (118-128 μm), y presentan estrías longitudinales muy finas en toda su longitud. El esófago mide entre 575 y 610 μm , con una anchura máxima en la parte distal que oscila entre 48 y 60 μm . Las papilas cervicales están situadas a una distancia comprendida entre 328 y 339 μm del extremo anterior.

Spiculoptera mathevossiani presenta papilas prebursales y su bolsa copulatriz es característica: los dos lóbulos laterales están divididos por una profunda hendidura, mientras que el lóbulo dorsal es apenas perceptible. Además, la membrana accesoria de la bolsa está ausente. La longitud de la costilla dorsal se encuentra entre 25 y 30 μm y se divide en su parte final en dos pequeñas ramas (6-8 μm cada una), que se ensanchan dando lugar a una formación gruesa de forma triangular. Además presenta en su superficie ventral una vaina cuticular bastante desarrollada y compacta que cubre la región distal del nematodo hasta la cloaca y enfrente de ésta se encuentra el cono genital que posee dos pares de papilas. Las dos espículas de entre 183 y 204 μm , son iguales y hacia la mitad de su longitud se dividen en tres ramas: la primera es una continuación del tronco principal que termina en forma de “zapato”, mientras que la segunda es bastante delgada y de anchura constante que acaba en forma aguda. La última rama es la de mayor anchura y comparativamente es la menos quitinizada, terminando en un extremo romo. Los extremos proximales de las espículas terminan en una estructura con forma de capuchón. El gubernáculo es rudimentario y no presenta coloración.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de las hembras de *Spiculoptera mathevossiani*.

Spiculoptera böhmi. Gebauer (1932).

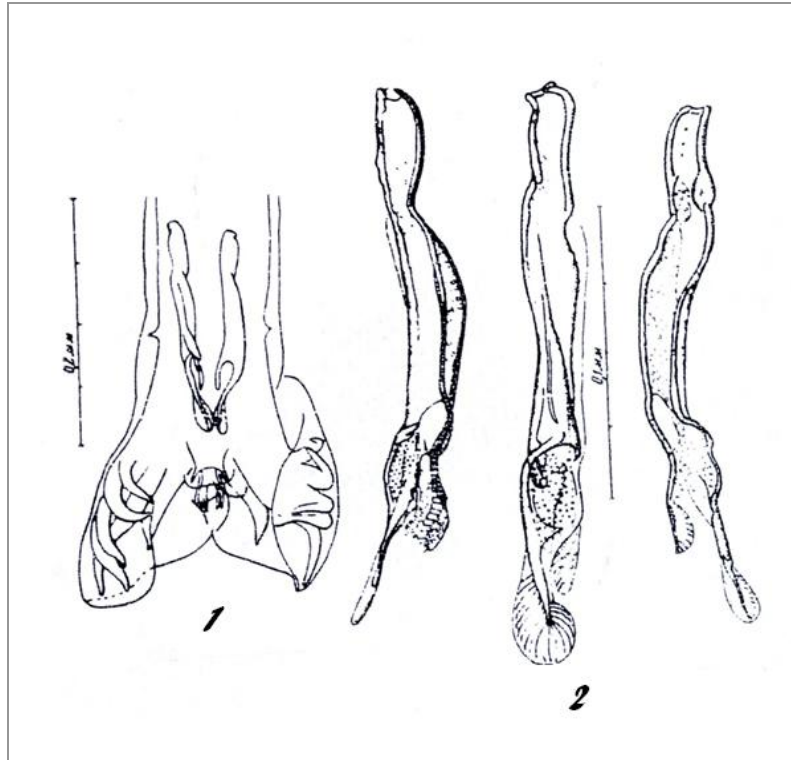
Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: rebecos, gamos, **ciervos sica** y **corzos**.

Orlov (1933) y Skrjabin y Orlov (1934) identificaron esta especie como *S. spiculoptera*. Sin embargo Gebauer (1933) las considera especies diferentes, en función de la morfología de las espículas.

Los machos miden entre 6 y 7 mm, y la longitud del esófago es de 520 μm . La costilla mediolateral presenta una longitud de 150 μm , mientras que la posterolateral es la más corta de todas. Las costillas anteroventral y lateral son delgadas y rectas mientras que la posteroventral es mucho más gruesa y se

curva ventralmente. La costilla dorsal es corta, de 20 μm de largo y se divide en dos ramas que en su punto medio vuelven a bifurcarse. Las ramas externas son curvas mientras que las internas son más largas y rectas. En el interior de la bolsa copulatriz se halla el cono genital y la membrana bursal accesoria. Las pequeñas proyecciones quitinizadas de la abertura de la cloaca, presentes en la mayoría de las especies del género, están ausentes en *S. böhmi*.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas.

Figura 38.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculopteragia böhmi*.

Las espículas, asimétricas y de una longitud comprendida entre 160 y 175 μm , son tubulares en su parte proximal mientras que medialmente muestran unas alas con una estría transversal. La espícula izquierda se divide distalmente en dos ramas, mientras que la derecha lo hace en tres. La rama más larga se aparta de la porción ventromedial y se curva lateralmente extendiéndose paralelamente al eje longitudinal de la misma. La terminación de esta rama está expandida en forma de “abanico”; la otra rama se sitúa medialmente y presenta una expansión a modo de “pluma”. En la espícula

derecha la tercera rama se encuentra lateral y dorsalmente. El gubernáculo está ausente.

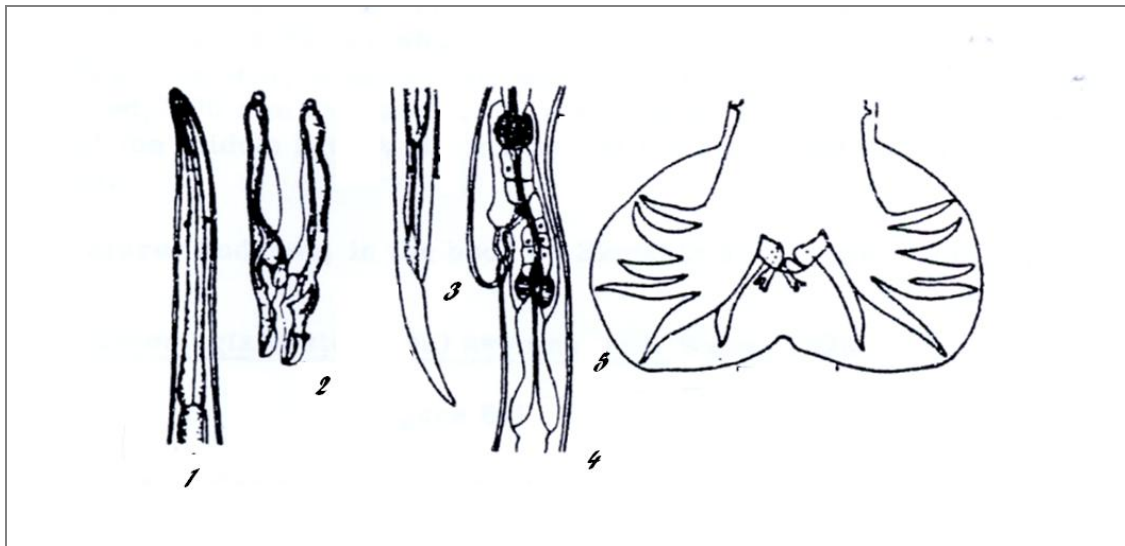
La ausencia en *S. böhmi* de formaciones quitinizadas en bastón y su presencia en *S. spiculoptera*, junto con el hecho de que las costillas de la membrana bursal accesoria en *S. böhmi* presentan forma de U, mientras que su disposición en *S. spiculoptera* es en V, dejan abierta la discusión sobre la existencia de estas dos especies.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado descripciones de la hembras de ***Spiculoptera* böhmi**.

***Spiculoptera* asymmetrica**, Ware (1925).

Localización: abomaso.

Hospedadores: **corzos, ciervos y ciervos sika**.



1. Extremo anterior. 2. Espículas. 3. Extremo terminal de la hembra. 4. Región vulvar. 5. Bolsa copulatriz.

Figura 39.- Principales estructuras morfológicas de *Spiculoptera asymmetrica*.

Los machos miden 5 mm de largo por 100 μ m de ancho. Las papilas prebursales se localizan un poco antes del extremo de la bolsa copulatriz. Ésta

es el doble de ancha que el resto del cuerpo. La costilla posteroventral es considerablemente más ancha que la anteroventral. Ambas divergen a cierta distancia pero el extremo de la posteroventral se gira y acerca al extremo de la costilla anteroventral. La costilla dorsal es muy corta. Cada rama presenta una inclinación característica hacia el exterior en la mitad posterior de su longitud. La longitud de las espículas es de 200 μm y son asimétricas. El extremo anterior de ambas es redondeado, mientras que la mitad proximal es hueca con una concavidad dorsal. La estructura de ambas es muy compleja pero su principal peculiaridad es la rama en forma de T situada cerca del extremo distal de la espícula derecha. El extremo distal de las espículas es puntiagudo, en la parte ventral es redondeado y está rodeado por una membrana fina. El cuerpo del gubernáculo, que es incoloro, tiene forma de "canoas" y presenta una longitud de 45 μm .

Las hembras presentan una longitud de 6 mm por 120 μm de ancho. La vulva presenta una aleta prominente dirigida hacia atrás y está situada a 1 mm de la extremidad terminal. La estructura del oviyector es muy similar a la de *Ostertagia ostertagi*. El ano se sitúa a una distancia de entre 200 y 250 μm de la extremidad distal. En la parte frontal de la extremidad se observa normalmente un anillo en forma de surco prominente.

Género *Trichostrongylus*, Loos (1905).

Incluye especies parásitas del abomaso e intestino delgado. Son vermes pequeños (5-8 mm), filiformes y de color pardo rojizo. No poseen cápsula bucal. En la parte anterior se observa el poro excretor, ubicado ventralmente. Tienen un largo esófago que mide 950 μm .

En los machos la bolsa copulatriz está bien desarrollada, tienen 2 lóbulos laterales amplios y el dorsal está poco definido. Las espículas son cortas, robustas, bien quitinizadas, retorcidas y de color pardo. Poseen gubernáculo.

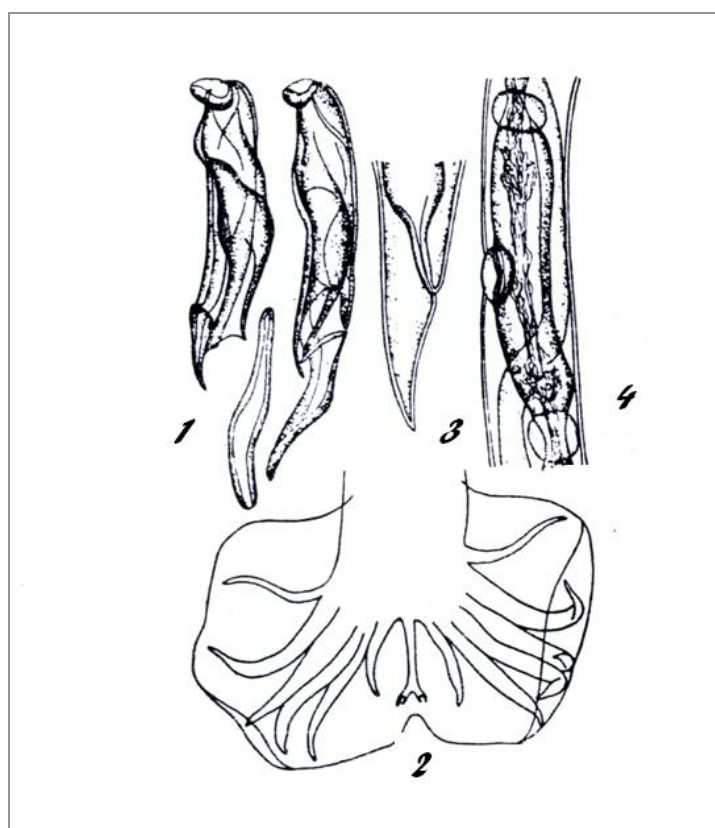
Las hembras tienen útero anfidelfo y la vulva se encuentra en la parte posterior del cuerpo. La extremidad distal es corta (70 a 90 μm) y puntiaguda.

Las especies más frecuentes son:

Trichostrongylus axei, Cobbold (1879).

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **rumiantes silvestres**.



1. Espículas. 2. Extremo posterior del macho. 3. Extremo posterior de la hembra.
4. Región de la vulva.

Figura 40.- Principales estructuras morfológicas de *Trichostrongylus axei*.

Esta especie se localiza fundamentalmente en abomaso aunque García Romero (1992) y Garijo *et al.* (2009) comprobaron que también se observaba en intestino delgado de ganado vacuno y ovino sacrificado, respectivamente, en Galicia y en Murcia.

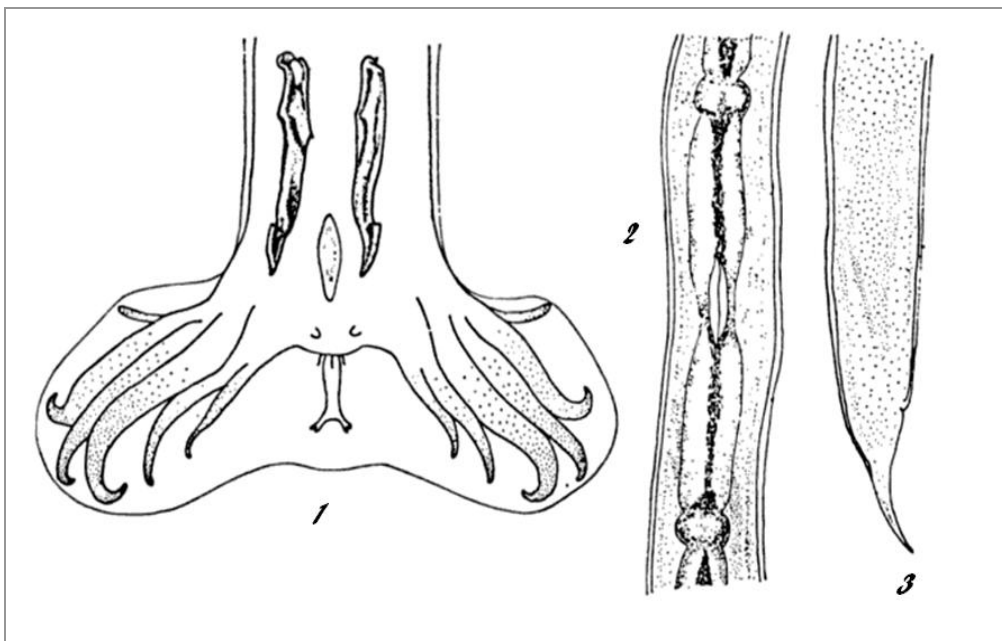
Los machos miden 3,5-4,5 mm x 60 μ m. Presentan una bolsa copulatrix bien desarrollada. La costilla ventral es larga y delgada y se curva en dirección proximal; la dorsal es relativamente larga y delgada y se bifurca poco antes de su terminación, para posteriormente volver a dividirse en dos, de manera que se forman cuatro procesos que terminan al mismo nivel. Las espículas son cortas, robustas y desiguales en cuanto a su forma y longitud, además, en su parte media presentan una espina. El gubernáculo está quitinizado y mide 50-60 μ m.

Las hembras miden 4,5-5,5 mm x 75 μ m. La vulva se encuentra en la parte final del cuerpo. La cola es corta (90 μ m), aunque algo más larga que la de *T. colubriformis* y *T. vitrinus*, terminando en punta.

***Trichostrongylus colubriformis*, Giles (1892).**

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **rumiantes silvestres**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Región de la vulva. 3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 41.- Principales estructuras morfológicas de *Trichostrongylus colubriformis*.

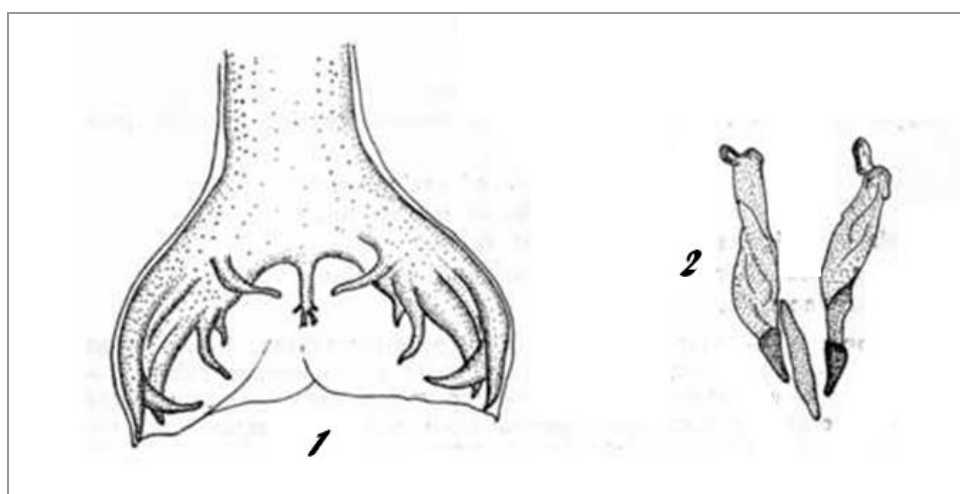
Los machos miden 4-6 mm x 70-90 μ m. La bolsa copulatriz es bilobulada y tiene la costilla antero-lateral más robusta. El lóbulo dorsal es corto así como la costilla dorsal, constituida por dos ramas laterales incompletas. Las espículas son de igual longitud (120-145 μ m) y terminan en una característica forma triangular. El gubernáculo, que mide 65-75 μ m, está bien quitinizado y tiene forma ondulada al observarlo lateralmente.

Las hembras, de 5-7 mm x 90 μ m, presentan una abertura vulvar ovalada y la cola es corta y termina en punta.

Trichostrongylus vitrinus, Loos (1905).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, corzos y rumiantes silvestres.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas y gubernáculo.

Figura 42.- Principales estructuras morfológicas de *Trichostrongylus vitrinus*.

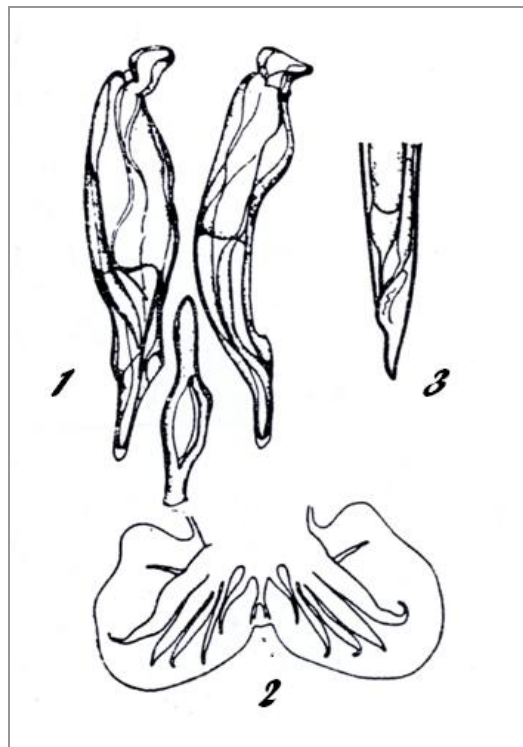
Los machos miden 4,5-7 mm x 85 μ m. La bolsa copulatriz es algo más grande que la de *T. colubriformis*. La costilla dorsal es robusta y se bifurca cerca de su terminación. Las espículas son de igual longitud (160-170 μ m) y terminan en forma puntiaguda. El gubernáculo mide 95 μ m de largo.

Las hembras miden 5-7,5 mm x 90 μ m. La abertura vulvar es ovalada y está dispuesta longitudinalmente, sobresaliendo el labio del lado anterior. La parte distal del cuerpo disminuye de grosor estrechándose cónicamente hasta la abertura anal. La extremidad distal mide 90 μ m de largo, ventralmente es cóncava y termina en punta.

***Trichostrongylus capricola*, Ramsom (1907).**

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **rumiantes silvestres**.



1. Espículas y gubernáculo. 2. Extremo posterior del macho. 3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 43.- Principales estructuras morfológicas de *Trichostrongylus capricola*.

Los machos miden 4,3-4,9 mm y su bolsa copulatrix 80-100 μ m de ancho. La costilla postero-ventral es más larga y gruesa que el resto, siendo la antero-lateral y la externo-dorsal las más cortas y delgadas, sobre todo esta última. Las tres costillas laterales restantes poseen una longitud similar. Las espículas miden 130-145 μ m de largo y su extremo proximal es más grueso que el distal; además, las porciones distales de las espículas son menos

acentuadas que en *T. vitrinus* y no presentan la forma triangular típica de *T. colubriformis*.

Las hembras miden 5,8-6,8 mm y poseen una mayor anchura en la región vulvar (75-80 μm). El grosor del cuerpo se adelgaza desde el bucle ovárico (45-65 μm) situado a 140-230 μm del final del cuerpo hasta la región anal (25-32 μm). La vulva se abre en un orificio ligeramente oblicuo y longitudinal situado a 1,1-1,2 mm del final del cuerpo y está recubierta por un labio cuyo borde se funde gradualmente con la cutícula; la longitud de la vulva, incluyendo el labio, es de 45-50 μm . El oviyector junto con el esfínter mide entre 320 y 380 μm .

Género *Cooperia*, Ransom (1907).

Las especies de este género se localizan en intestino delgado y con menor frecuencia en cuajar. Son relativamente pequeñas, de color rojizo y el extremo anterior se caracteriza por poseer una vesícula cefálica, circularmente estriada, que termina en el tercio anterior del esófago. La cutícula presenta de catorce a dieciséis pequeñas estrías transversales, especialmente visibles en la región esofágica. El esófago es corto (240 a 440 μm).

En los machos, la bolsa copulatriz es voluminosa y posee dos lóbulos laterales grandes y uno dorsal más pequeño. La costilla dorsal, hacia la mitad de su longitud se divide en dos ramas en forma de "lira" y la parte exterior de cada una de ellas se prolonga en otra pequeña ramificación. Las espículas son cortas y robustas y casi siempre terminan en punta. Carecen de gubernáculo.

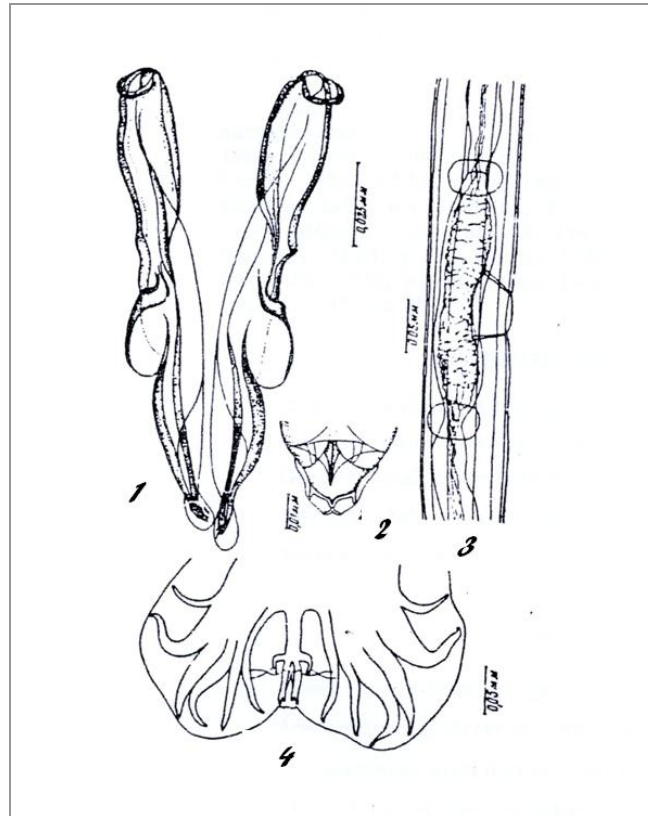
Las hembras poseen una extremidad distal alargada y la vulva está situada en el tercio posterior del cuerpo. Algunas especies tienen pequeños labios vulvares o dilataciones cuticulares.

Las especies más frecuentes son:

Cooperia punctata, Von Linstow (1906).

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, vacas y **antílopes**.



1. Espículas. 2. Cono genital. 3. Región de la vulva. 4. Extremo posterior del macho

Figura 44.- Principales estructuras morfológicas de *Cooperia punctata*.

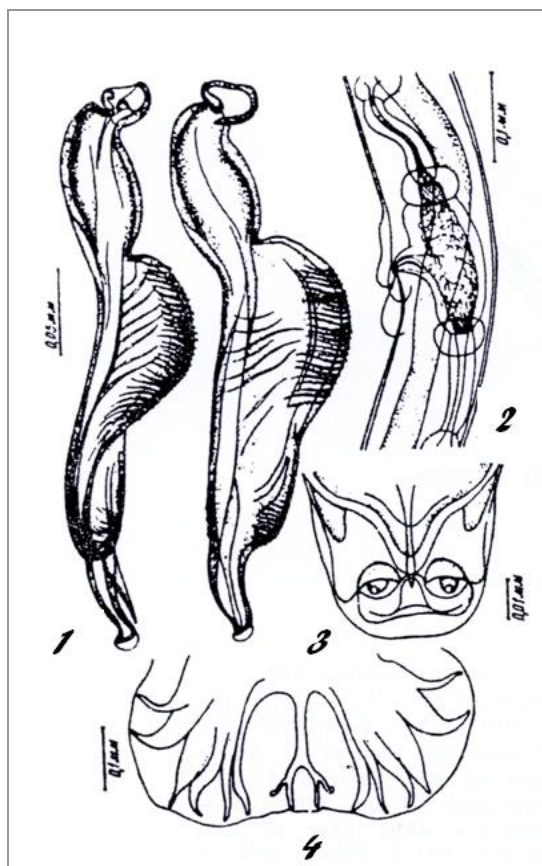
Los machos miden 5-7,5 mm x 75-110 μ m y su esófago 260-360 μ m. En la bolsa copulatrix se observa un gran número de pequeños puntos por lo que reciben el nombre de "punctata". La bifurcación de la costilla dorsal tiene forma de "U". Las espículas, que terminan en una punta obtusa, miden 130-160 μ m y hacia la mitad de su longitud poseen una cresta redondeada que sobresale lateralmente.

Las hembras miden 5,7-9 mm x 75-160 μ m, tienen una abertura vulvar lisa y el extremo final, de 135-200 μ m, termina en una punta que se dobla ventralmente.

Cooperia pectinata, Ransom (1907).

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: ovejas y vacas.



1. Espículas. 2. Región de la vulva. 3. Cono genital. 4. Extremo posterior del macho.

Figura 45.- Principales estructuras morfológicas de *Cooperia pectinata*.

Los machos miden 7 mm x 130-160 μm y su esófago 400 μm . La bolsa copulatriz es algo más pequeña que la de *C. oncophora* y en el borde ventral tiene estrías que dan nombre a la especie (pectinata); la costilla dorsal se divide en cuatro ramas paralelas, las internas son largas y las externas cortas, terminando todas en punta roma. Las espículas miden 240-290 μm y cuando se observan en posición lateral se ven dobladas en su tercio medio.

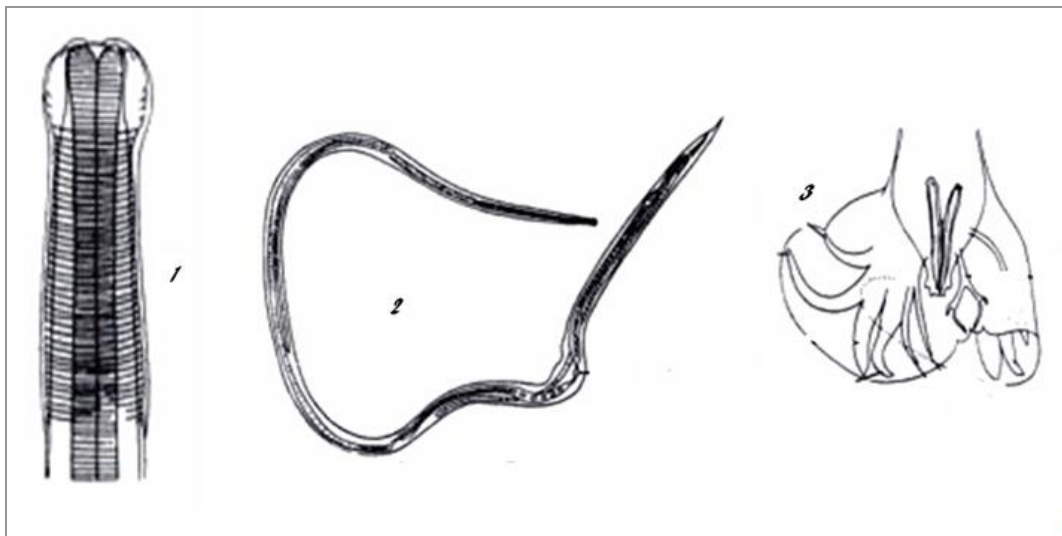
Las hembras miden 7,5-9 mm x 135 μm ; su cuerpo aumenta de grosor inmediatamente antes de la abertura vulvar, que es transversal y está cubierta con el labio proximal que está algo engrosado y sobresale. Próximo al labio se

encuentra un proceso cuticular transparente cuya forma es casi redonda. La extremidad distal es alargada (175 μm) y termina en punta, que generalmente se curva ventralmente.

***Cooperia oncophora*, Railliet (1898).**

Localización: abomaso e intestino delgado.

Hospedadores: vaca, oveja, cabra y **rumiantes silvestres**.



1. Extremo anterior. 2. Hembra. 3. Extremo posterior del macho.

Figura 46.- Principales estructuras morfológicas de *Cooperia oncophora*.

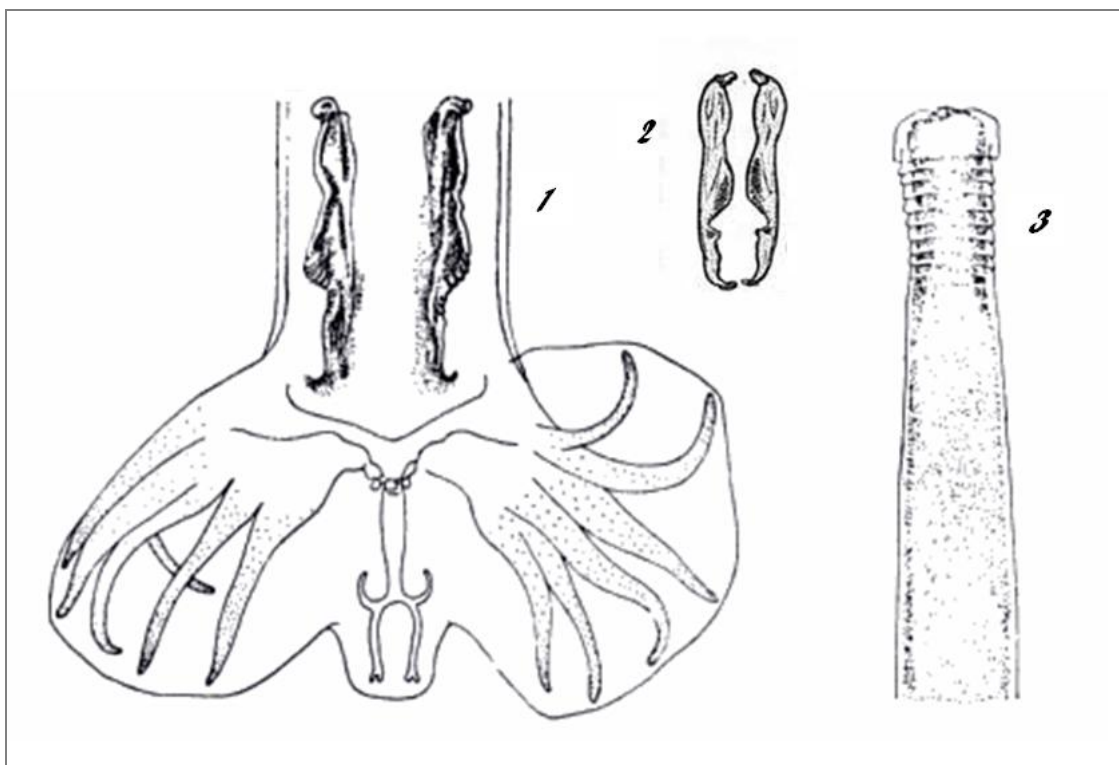
Los machos miden 5,5-9 mm x 150-250 μm . Poseen una bolsa copulatrix grande y bien desarrollada. La costilla antero-lateral es gruesa y la dorsal se divide en dos ramas ovaladas que terminan bifurcándose. Las espículas miden 240-300 μm y terminan de forma roma.

Las hembras miden 6-10 mm x 120-190 μm y tienen un esófago de 280-440 μm . En la región vulvar se observa una dilatación cuticular característica, el cuerpo disminuye paulatinamente de grosor y la extremidad distal que es alargada (160 μm) posee estrías transversales y termina en punta.

Cooperia curticei, Giles (1892).

Localización: intestino delgado y excepcionalmente abomaso.

Hospedadores: ovejas, cabras, **corzos** y **ciervos**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Espículas. 3. Extremo anterior.

Figura 47.- Principales estructuras morfológicas de *Cooperia curticei*.

Los machos miden 4,5-7 mm x 75-85 μ m. La bolsa copulatrix está bien desarrollada y el lóbulo dorsal es corto. La costilla dorsal tiene dos ramas curvadas en forma de U que terminan bifurcadas, pudiéndose observar otra ramificación lateral en la base de estas bifurcaciones. Las espículas, que hacia la mitad de su longitud presentan aristas en forma de garfios, son cortas (135-145 μ m) y robustas y terminan ligeramente dobladas.

Las hembras miden 5,5-7 mm x 80-100 μ m, tienen una vulva ovalada y la extremidad distal es la más larga de todas las especies de este género (100 a 150 μ m).

Cooperia mcmasteri, Gordon (1932).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: vacas, ovejas y **guanacos**.

Los machos miden 6,8 mm x 160-200 μm y su esófago 400 μm . La bolsa copulatriz es menos robusta que la de *C. oncophora*. La costilla dorsal es similar a la de *C. oncophora* pero de forma más redonda. Las espículas son rectas (270 μm), delgadas y terminan en dos ramas; la media es más corta y acaba en forma puntiaguda, mientras que la lateral termina con una expansión hialina en forma de “escudo”.

Las hembras tienen un tamaño de 8 mm x 130-160 μm y su cuerpo se engrosa en la zona vulvar; antes y, a veces, después de la abertura vulvar se observa una pequeña elevación cuticular y la extremidad distal que es alargada, termina en punta.

Género *Marshallagia*, Orlov (1933).

Las especies de este género tienen las mismas características que las de *Ostertagia*, pero no poseen gubernáculo.

La principal especie es:

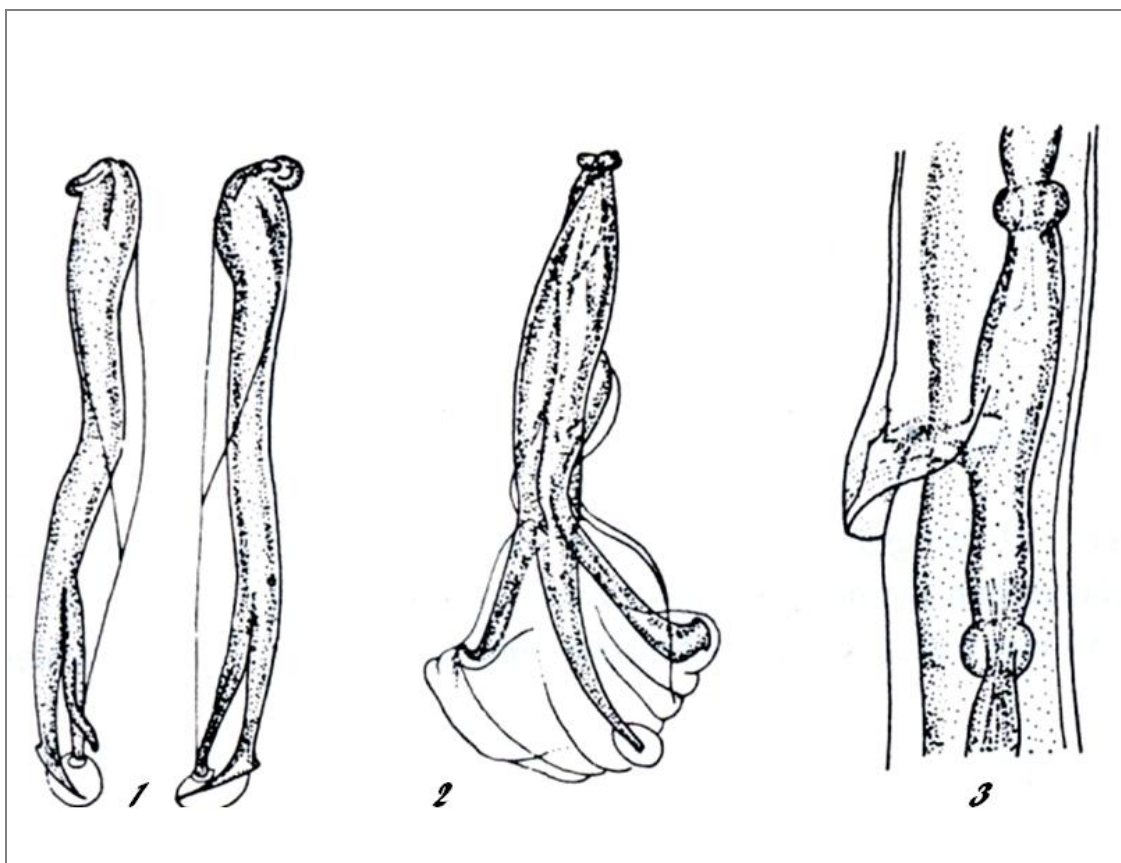
Marshallagia marshalli, (Ransom 1907).

Localización: abomaso.

Hospedadores: cabras, ovejas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.

Los machos miden hasta 13 mm x 200 μm . El esófago mide 850 μm y las papilas cervicales se encuentran antes de la mitad del mismo. Las papilas prebursales son bien visibles. La bolsa copulatriz está bien desarrollada teniendo un diámetro de 550 a 600 μm . La sección dorsal de la misma es más corta que las laterales. El rayo dorsal es largo y delgado mide 250 a 330 μm .

Las espículas son cortas, de color dorado y están poco quitinizadas. Miden entre 250 y 280 μm de largo y en la mayoría de los casos hacia la mitad están dobladas dorsalmente. En su segundo tercio de largo, se dividen en tres ramas, de las cuales las dos más largas y más gruesas terminan con una formación hialina y la tercera, más corta y delgada, termina en forma de gancho abierto. No presentan gubernáculo.



1. Espículas. 2. Espículas con las puntas ramificadas y mostrando la membrana. 3. Región vulvar.

Figura 48.- Principales estructuras morfológicas de *Marshallagia marshalli*.

Las hembras miden de 12 a 20 mm x 200 a 260 μm de ancho. El esófago mide entre 700 y 900 μm de largo. La vulva generalmente está cubierta por la una prolongación cuticular similar a la de *T. circumcincta*. El extremo terminal mide de 200 a 300 μm y termina en forma puntiaguda.

Género *Haemonchus*, Cobb (1898).

Las especies de este género son las de mayor tamaño y miden entre 10 y 30 mm; su color es rojizo debido a la sangre de la que se alimentan. Poseen una cavidad bucal pequeña, con un diente en su base. El esófago es corto y las papilas cervicales, situadas en el primer cuarto del cuerpo, son prominentes.

La bolsa copulatriz de los machos está formada por grandes lóbulos laterales y uno pequeño dorsal asimétrico con una costilla dorsal ramificada en forma de "Y". Las espículas son relativamente cortas y el gubernáculo está presente.

La vulva de la hembra está situada en la parte posterior del cuerpo, generalmente cubierta por una prolongación cuticular con forma de lengua, dirigida distalmente.

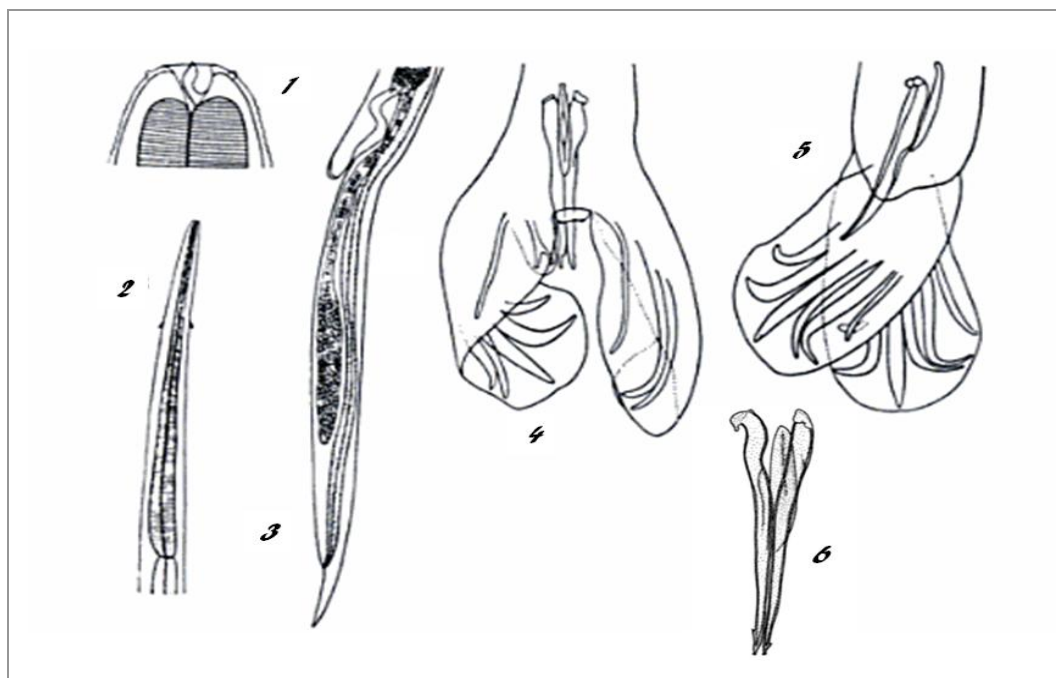
Las principales especies son:

***Haemonchus contortus*, Rudolphi (1803).**

Localización: abomaso.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.

Los machos miden 13-20 mm x 300-400 µm y tienen un esófago relativamente corto (1-1,3 mm). Las papilas cervicales están situadas en la primera cuarta parte del esófago. La cutícula tiene alrededor de cuarenta estrías longitudinales. En la bolsa copulatriz de los machos se aprecia un lóbulo dorsal asimétrico y con forma de "lengua"; la costilla dorsal tiene forma de "Y" y cada rama termina bifurcada. Las espículas son relativamente cortas (370-450 µm) y antes de su terminación muestran una pequeña protuberancia en forma de gancho; la de la espícula derecha está situada a 21-40 µm del extremo terminal de la espícula mientras que la de la izquierda está a 41-46 µm. El gubernáculo mide 200 x 25 µm y está bien quitinizado.



1. y 2. Extremo anterior. 3. Extremo posterior de la hembra. 4. y 5. Extremo posterior del macho. 6. Espículas y gubernáculo.

Figura 49.- Principales estructuras morfológicas de *Haemonchus contortus*.

Las hembras, cuyo tamaño es 18-32 mm x 500 μ m, muestran un útero de color blanco enrollado alrededor del intestino, que tiene color rojo por la sangre ingerida. La vulva se encuentra a 3-4,5 mm de la extremidad caudal y normalmente está cubierta por una prolongación cuticular con forma de lengua que mide 500 μ m de largo. No obstante, ésta puede faltar y en su lugar puede aparecer una protuberancia cuticular transparente que envuelve a la abertura vulvar. La extremidad distal es alargada.

Haemonchus placei, Place (1893).

Localización: abomaso.

Hospedadores: vacas, ovejas y **corzos**.

Los machos de esta especie se diferencian de los de *H. contortus* por tener espículas de mayor longitud (454-470 μ m) y por la distancia desde los

pequeños ganchos de las espículas hasta la punta terminal de las mismas: en la espícula izquierda es de 52-54 μm y en la derecha de 27-37 μm .

La mayoría de las hembras tienen un proceso cuticular en forma de “muñón” en la zona vulvar.

2.2.2.1.2.- Familia Molineidae

Género *Nematodirus*. Ransom (1907).

Las especies de este género se localizan en intestino delgado y con menos frecuencia en abomaso.

El cuerpo es filiforme y en el extremo anterior la cutícula se ensancha y forma una pequeña vesícula cefálica. La cutícula presenta hasta dieciocho estrías longitudinales

Los machos miden 8-16 mm y su esófago 400-600 μm , siendo la relación esófago-cuerpo de 1:25. En la bolsa copulatriz se observan “relieves” de forma redonda u ovalada y tamaño variable similares a “lunares”; además, los lóbulos laterales están bien desarrollados y el lóbulo dorsal es pequeño. La costilla dorsal es doble y termina en 2 o 3 formaciones digitiformes. Las espículas son delgadas, muy largas, de estructura tubular y aparecen fusionadas en su parte distal mediante una membrana quitinosa, teniendo esta terminación una gran importancia taxonómica. No tienen gubernáculo.

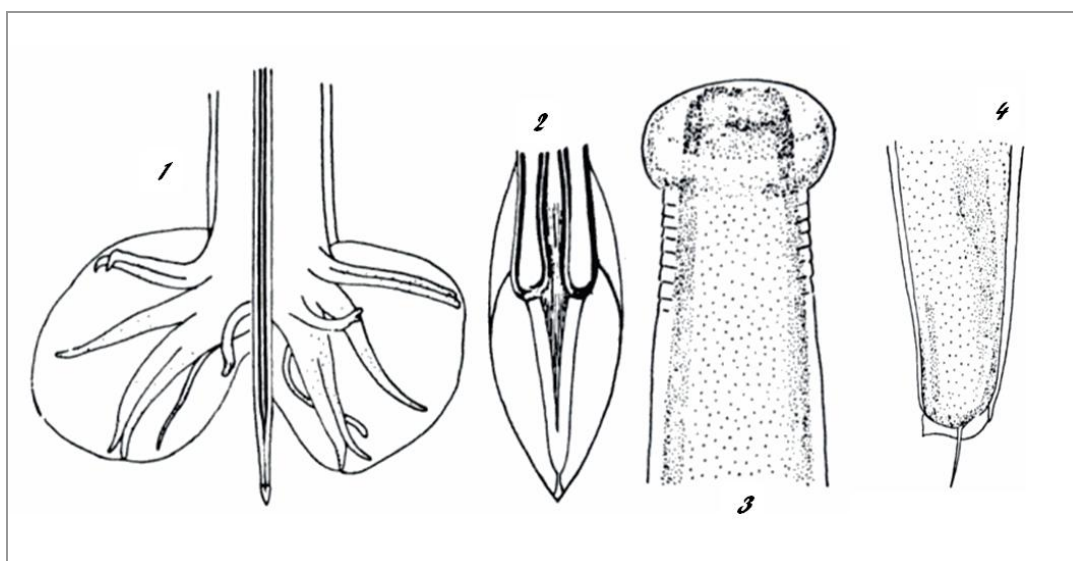
Las hembras miden 19-25 mm y tienen la parte anterior del cuerpo más delgada que la posterior, la cola tiene forma cónica y está truncada, terminando en un corto apéndice filiforme, conocido como espina.

Las especies más importantes son:

Nematodirus filicollis, Rudolphi (1803).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo posterior del macho. 2. Punta de las espículas fusionadas. 3. Extremo anterior. 4. Extremo posterior de la hembra.

Figura 50.- Principales estructuras morfológicas de *Nematodirus filicollis*.

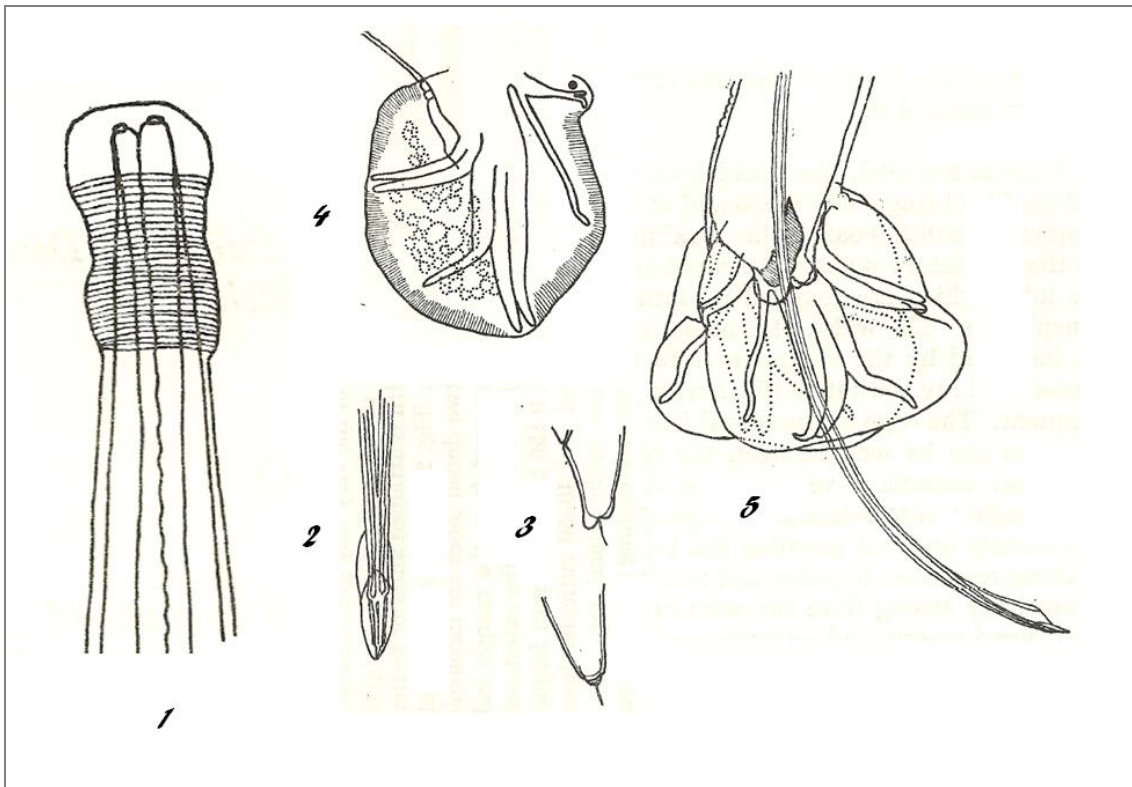
Los machos miden 8-15 mm x 125-175 μm y su esófago 400-600 μm . Tienen una dilatación cuticular cefálica (25 a 50 μm) y en su parte distal se observan estrías transversales. La bolsa copulatrix está bien desarrollada y tiene dos lóbulos laterales bien desarrollados (con estrías relativamente cortas en su borde) con numerosas manchas o relieves de tamaño variable. La costilla dorsal es doble y termina trifurcada. Las espículas son largas (700-950 μm), delgadas, tubulares y en la parte distal están unidas por una membrana quitinosa que termina en forma de lanceta. Esta parte terminal es larga (20-22 μm) y, si se observa lateralmente, presenta una suave curvatura ventrodorsal en su parte media.

Las hembras miden 12-20 mm x 200-250 μm ; la vulva está situada en el tercio posterior del cuerpo y la extremidad distal termina truncada y posee una pequeña y delgada espina en el medio.

Nematodirus europaeus, Jansen (1972).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: **corzos**.



1. Extremo anterior. 2. Punta de las espículas fusionadas. 3. Extremo posterior de la hembra, vistas dorsal y lateral. 4. y 5. Bolsa copulatriz.

Figura 51.- Principales estructuras morfológicas de *Nematodirus europaeus*.

Los machos miden entre 8,8 y 10,6 mm x 66-86 μm . La cutícula también presenta entre 0 y 10 estrías longitudinales en la región de la cabeza. La bolsa copulatriz consta de dos lóbulos y la longitud de la misma desde las costillas ventrales hasta la costilla externo-dorsal está comprendida entre 149 y 152 μm con una anchura de 156 μm . El borde de los lóbulos es estriado y presenta entre 40 y 50 estrías que se pueden observar entre el cuerpo y la costilla

medio-lateral. El cono genital se halla reforzado por unas estructuras quitinosas, una pequeña dorsal y una ventral que está situada cerca de la vaina que rodea las espículas. Estas presentan una longitud comprendida entre 641 y 840 μm , son filiformes y en su extremo distal se fusionan. La punta lanceolada mide 13-20 μm de largo por 8-12 μm de ancho incluyendo la vaina.

Las hembras miden entre 12,8 y 13,5 mm por 176-203 μm de ancho. La vulva está situada a 4,3-4,4 mm del extremo terminal.

N. europaeus y *N. filicollis* son 2 especies bastante similares, aunque presentan alguna diferencia respecto a la bolsa copulatriz y espículas. La bolsa copulatriz de *N. filicollis* (235-258 μm de ancho) es mayor que la de *N. europaeus*; además, las espículas de *N. filicollis* son ligeramente más largas y el extremo final de las mismas presenta una terminación más aguda, siendo esta terminación cuando se observa lateralmente más recta en *N. europaeus*. Otra diferencia radica en la forma de la estructura quitinosa ventral del cono genital, que en *N. filicollis* es mucho más grande y se encuentra más separada de la vaina que rodea a las espículas en su parte media proximal.

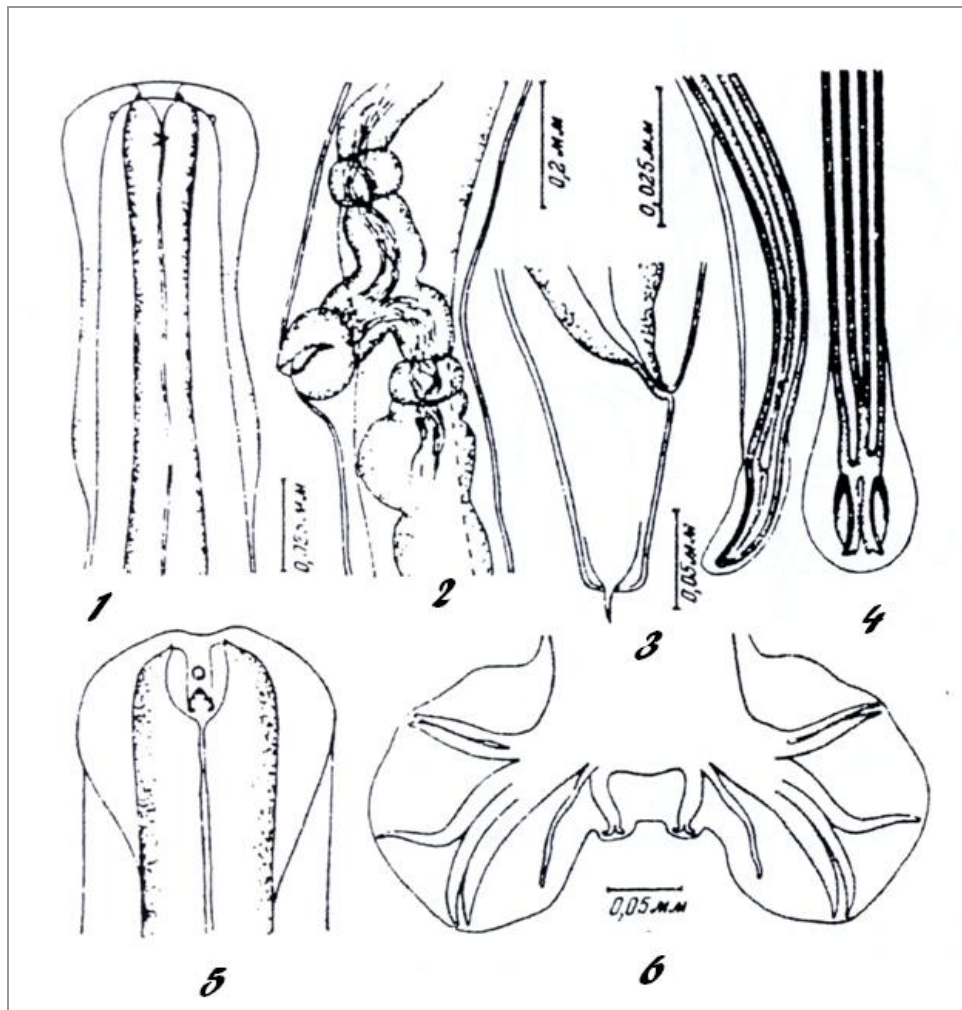
Nematodirus spathiger, Railliet (1896).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.

Los machos, de 9-19 mm x 180 μm , tienen una bolsa copulatriz relativamente pequeña, con pocos lunares y de pequeño tamaño. Las costillas dorsales terminan en forma bífida. Las espículas son largas y delgadas (900-1200 μm) y en su parte final presentan una dilatación, de 18 a 20 μm de largo, en forma de “cuchara” o “espátula”. Además, en esa parte distal, las dos espículas se unen mediante una membrana quitinosa.

Las hembras miden 15-29 mm x 360 μm . La vulva se sitúa en el tercio posterior del cuerpo, tiene una abertura transversal y pequeños labios vulvares. La extremidad distal es parecida a la de *N. filicollis*.



1. y 5. Extremo anterior. 2. Región de la vulva. 3. Extremo posterior de la hembra. 4. Espículas. 6. Extremo posterior del macho.

Figura 52.- Principales estructuras morfológicas de *Nematodirus spathiger*.

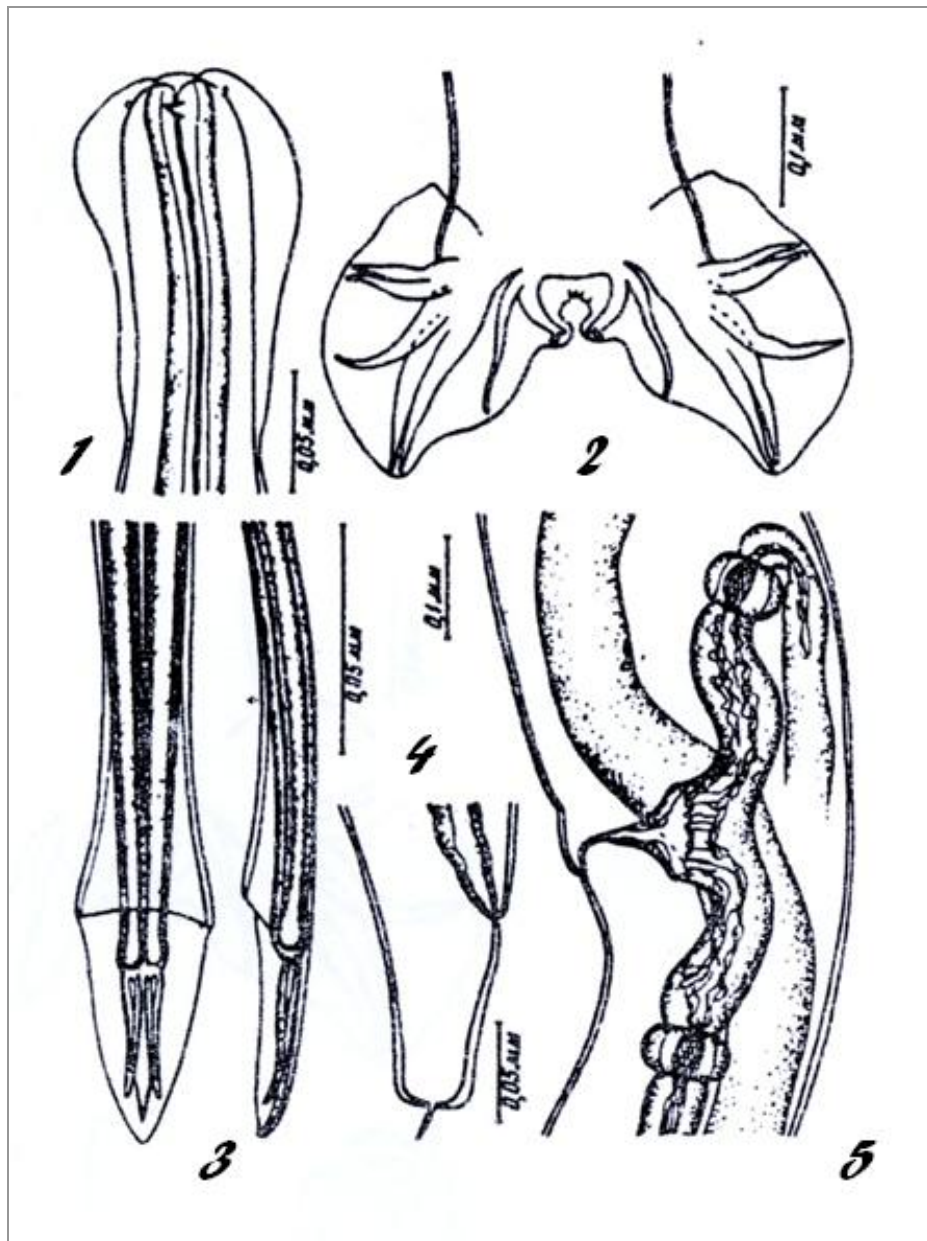
***Nematodirus helvetianus*, May (1920).**

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: vacas y ovejas.

Los machos miden 19 mm x 120-200 μ m. La bolsa copulatrix es parecida a la de *N. spathiger*, aunque algo más grande. Las costillas dorsales son robustas, terminan bifurcadas y son un poco más cortas que las costillas externo-dorsales. Las espículas son delgadas y largas (900-1.250 μ m) y, a

partir de su tercio medio, están unidas por una membrana quitinosa; su parte distal tiene forma lanceolada y mide aproximadamente 40 μm .



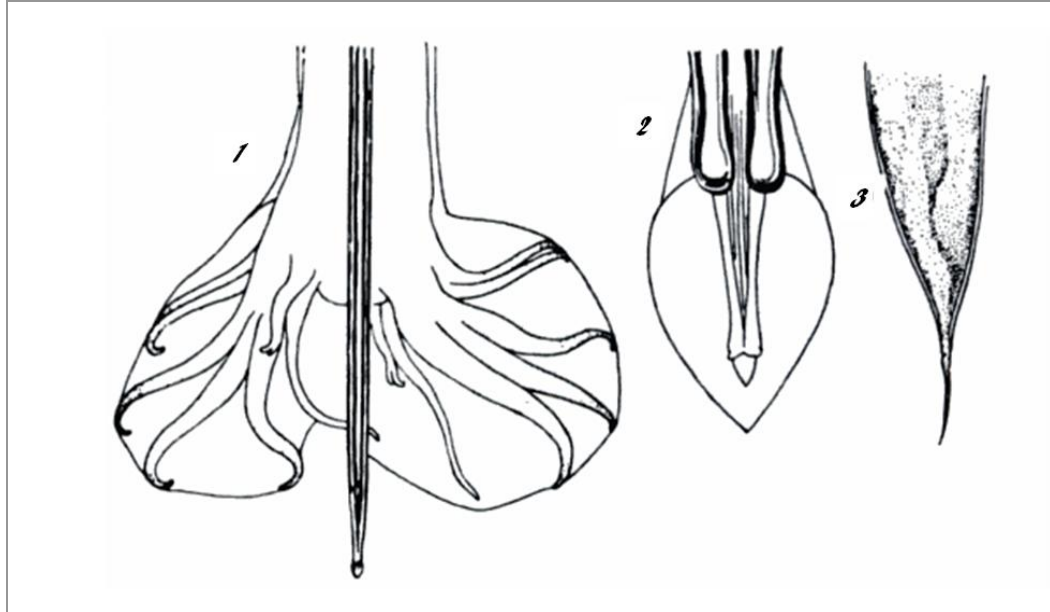
1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho. 3. Espículas.
4. Extremo posterior de la hembra. 5. Región de la vulva.

Figura 53.- Principales estructuras morfológicas de *Nematodirus helvetianus*.

Las hembras miden 18-25 mm x 240-340 μm , tienen un extremo final corto y truncado y en él se observa una espina; a partir de la vulva, el grosor del cuerpo es menor.

Nematodirus battus, Crofton & Thomas (1953).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: ovejas y **guanacos**.

1. Extremo posterior del macho. 2. Punta de espículas fusionadas.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 54.- Principales estructuras morfológicas de *Nematodirus battus*.

Los machos, cuyo tamaño es 10-16 mm x 133-150 μm , tienen una dilatación cuticular cefálica bien desarrollada que en su parte distal está estriada transversalmente. La bolsa copulatriz difiere de las otras especies de *Nematodirus* porque la costilla medio-lateral y la postero-lateral terminan bastante alejadas. Las espículas miden 850-950 μm y se unen antes de terminar mediante una membrana quitinosa que forma un triángulo de bordes redondeados; además, la terminación proximal de las espículas está algo abultada.

Las hembras miden 15-24 mm x 185-250 μm , la extremidad distal es corta y su grosor se adelgaza para terminar en una prolongación más delgada que el resto de la cola.

Nematodirus abnormalis, May (1920).

Localización: Intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres**.

Los machos (11-17 mm x 150-200 μm) presentan la parte proximal de la vesícula cefálica algo más grande que *N. filicollis* y *N. spathiger*. La bolsa copulatriz es relativamente grande, pero notablemente menor que la de *N. filicollis*. Los lunares son numerosos y en su mayoría pequeños. Las costillas dorsales terminan bifurcadas. Las espículas son largas (900-1.250 μm) y delgadas y al inicio tienen una prolongación digitiforme. En la parte donde se unen las espículas, éstas se retuercen un poco y terminan en forma de “cuchara” o de “espátula” (32 μm).

Las hembras miden 18-25 mm x 200 μm , la posición de la vulva es similar a la de *N. filicollis* y el labio proximal de la vulva es corto y tiene forma de pico.

Nematodirus oiratianus, Raevskaya (1929).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: ovejas, cabras y **rumiantes silvestres**.

Los machos miden 16,5 mm x 130-150 μm y el esófago 460-550 μm . La cutícula tiene 16 estrías longitudinales. La bolsa copulatriz tiene un tamaño similar a la de *N. helvetianus* y está formada por dos grandes lóbulos laterales y dos pequeños dorsales; posee abundante cantidad de lunares pequeños y algunos más grandes. Los lóbulos dorsales están separados de los laterales y entre ellos, por una profunda hendidura. Las tres costillas laterales nacen de un tronco común que es bastante ancho; la costilla antero-lateral, hacia la mitad de su longitud se desvía bruscamente y se aleja de las otras dos antes de llegar al borde de la bolsa copulatriz. Las costillas externo-dorsales son muy delgadas y largas, doblándose hacia la mitad de la línea media y, finalmente llegan al borde de la bolsa. Las costillas dorsales son fuertes, cortas y terminan bifurcadas. Las espículas son de color castaño claro, tubulares y de similar

tamaño (780 a 900 μm), ligeramente dilatadas en su parte proximal y con una corta prolongación digitiforme. Proximalmente discurren próximas una a la otra y en la parte distal se separan formando un ojal alargado. A partir de su tercio medio, las espículas se unen mediante una membrana transparente que al final se ensancha lateralmente en forma de “lanceta”.

Las hembras miden 14-18 mm x 280-340 μm , tienen la parte anterior del cuerpo más larga y delgada que la posterior. La vulva está situada en el tercio posterior del cuerpo; la abertura vulvar está formada por una hendidura transversal y tiene dos labios, el anterior se dobla internamente y tiene forma de “pico de ave”. La vagina es corta y entra directamente en el oviyector (394-498 μm de largo). La extremidad distal mide 83-116 μm y termina en forma roma, con una espina de aproximadamente 34 μm de largo.

2.2.2.1.3.- Familia Ancylostomatidae

Género *Bunostomum*. Railliet (1902).

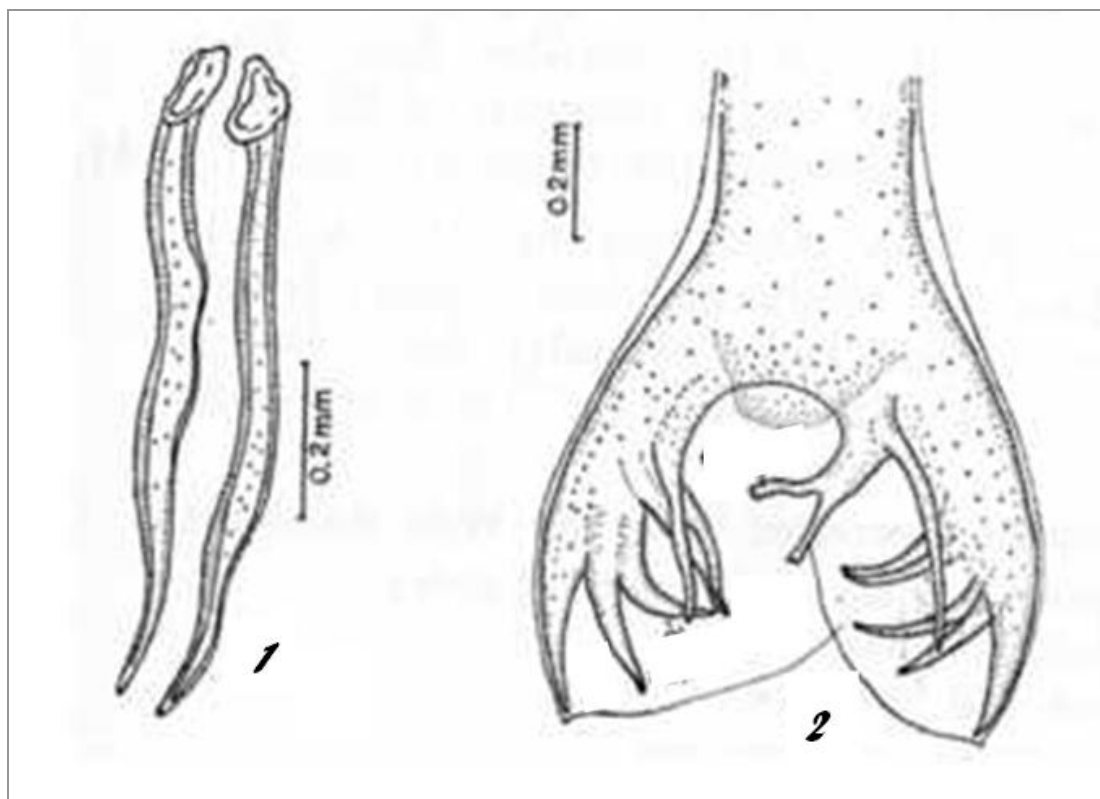
Las especies de este género presentan una cápsula bucal grande, con dos formaciones quitinosas de forma semilunar en su borde ventral y otras dos con forma de pequeñas lancetas en su fondo. No tienen dientes dorsales pero pueden tener pequeños dientes laterales. Presentan el extremo anterior curvado dorsalmente. La bolsa copulatriz se caracteriza por tener un lóbulo dorsal asimétrico y poco desarrollado. La costilla dorsal se bifurca y, según la especie, cada rama termina en forma bidigitada o tridigitada. Las espículas son largas y similares en forma y tamaño. Carecen de gubernáculo.

Las principales especies son:

Bunostomum trigonocephalum. Rudolphi (1808).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: oveja, cabras, corzos y gamuzas.



1. Espículas. 2. Extremo posterior del macho.

Figura 55.- Principales estructuras morfológicas de *Bunostomum trigonocephalum*.

Los machos miden de 12-17 mm x 550 μ m y presentan un esófago de 800-1.200 μ m, cuya anchura aumenta gradualmente hasta su unión con el intestino. La cápsula bucal posee en su borde ventral dos formaciones quitinosas y en el fondo posee otras dos con forma de lanceta. La bolsa copulatrix es ancha y asimétrica. Las espículas son delgadas y largas (600-640 μ m).

Las hembras miden 19-26 mm x 600-740 μ m y su vulva se localiza hacia la mitad del cuerpo. La extremidad distal es corta (250-275 μ m) y termina en punta.

Bunostomum phlebotomum Railliet (1900).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: vacas y cebús.

Los machos, de 10-18 mm x 450-500 µm poseen un esófago algo mayor que el de *B. trigonocephalum*. La cápsula bucal posee en su borde ventral dos pequeñas láminas quitinosas y en el fondo dos pares de lancetas. La bolsa copulatriz es asimétrica y las ramas de la costilla dorsal son tridigitadas. Las espículas son largas (3,5-4 mm) y filiformes, terminando en una punta ligeramente ensanchada.

Las hembras miden 16-24 x 550-650 µm. La vulva se sitúa hacia la mitad del cuerpo. La extremidad distal termina en una punta roma, similar a la de la hembra de *B. trigonocephalum*, pero con una longitud casi dos veces superior (400-500 µm).

2.2.2.1.4.- Familia Capillaridae**Género *Capillaria*.** Zeder (1980).

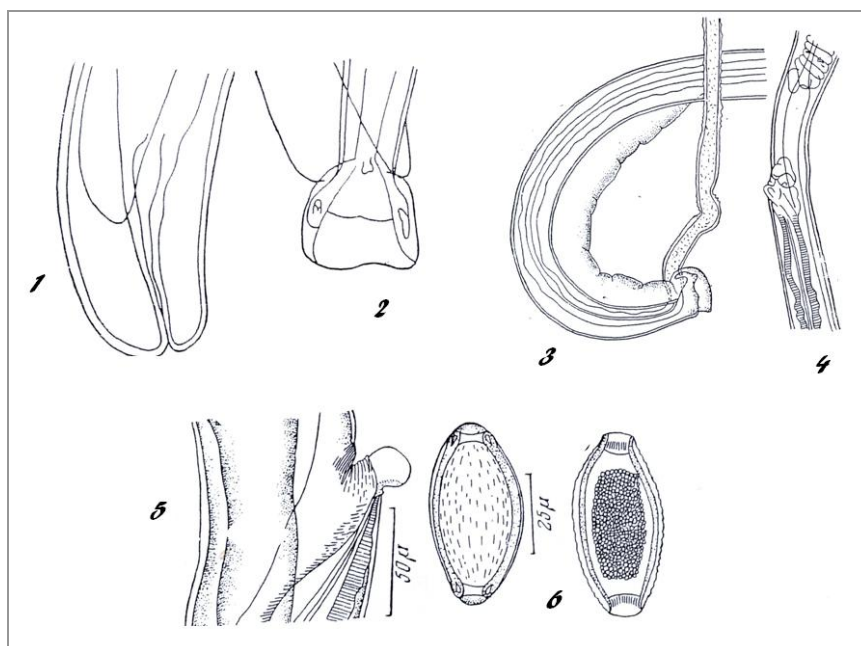
Las especies de este género se caracterizan porque su cuerpo es muy fino (forma capilar). La boca es simple y el esófago largo, incrementándose su tamaño gradualmente hasta el final. Tienen una sola espícula con una vaina espicular que, a su vez, puede ser lisa o presentar espinas en su superficie.

Las principales especies son:

***Capillaria bovis*.** Schnyder (1906).

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: vacas, ovejas, cabras, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo posterior de la hembra. 2. y 3. Extremo posterior del macho.
4. y 5. Región de la vulva. 6. Huevos.

Figura 56.- Principales estructuras morfológicas de *Capillaria bovis*.

Los machos miden 11-13 mm x 50-75 μ m. El esófago alcanza una longitud de 4-5 mm. Presentan una única espícula de 1-1,2 mm x 5 μ m, con una vaina sin espinas. El ano está en posición subterminal.

Las hembras, de entre 18 y 25 mm de largo por 80-116 μ m de ancho, poseen un esófago de 6-8 mm. El ano está en posición terminal o subterminal.

***Capillaria brevipes*. Ransom (1911).**

Localización: intestino delgado.

Hospedadores: vacas y ovejas.

Los machos miden de 8 a 9 mm de largo y su esófago 4 mm. Presentan una espícula y la vaina carece de espinas.

Las hembras miden 12 mm y el esófago tiene 5 mm. La vulva se sitúa al final del esófago. El ano se encuentra en posición terminal.

Capillaria bilobata. Bhalerao (1933).

Localización: abomaso.

Hospedadores: cebús.

Los machos miden 10-16,5 mm y su esófago 5-8 mm. La espícula es simple y la vaina no tiene ganchos.

Las hembras, de 14-21,3 mm, tienen un esófago de 6-9,4 mm. La vulva se sitúa al final del esófago. El ano es subterminal y el extremo posterior es redondeado.

Capillaria melegrica. Rodonaja (1947).

Localización: abomaso.

Hospedadores: cabras.

Los machos miden 11 mm de largo y la bolsa de la espícula no presenta ganchos.

La longitud de las hembras es de entre 18 y 20 mm de largo.

2.2.2.1.5.- Familia Trichuridae**Género *Trichuris***, Roederer (1761).

Tienen una cutícula estriada transversalmente y una boca simple; el esófago es delgado y muy largo; la relación entre la longitud del esófago y la longitud total del cuerpo es de 2:1 a 5:1, aunque esta relación puede variar entre machos y hembras de la misma especie.

Los machos no poseen bolsa copulatriz y solo tienen una espícula delgada y larga, rodeada por una vaina (prepucio) que puede ser lisa o poseer pequeñas espinas.

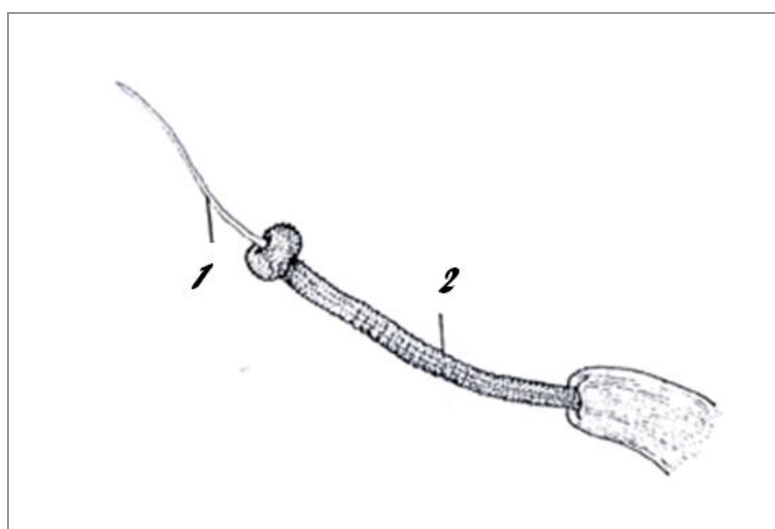
Las hembras tienen la vulva situada en la unión de la parte anterior del cuerpo, que es más delgada, que con la posterior, que es más gruesa.

Las principales especies son:

Trichuris ovis, Abildgaard (1795).

Localización: ciego e intestino grueso.

Hospedadores: ovejas, vacas, cabras, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Espícula. 2. Vaina.

Figura 57.- Principales estructuras morfológicas de *Trichuris ovis*.

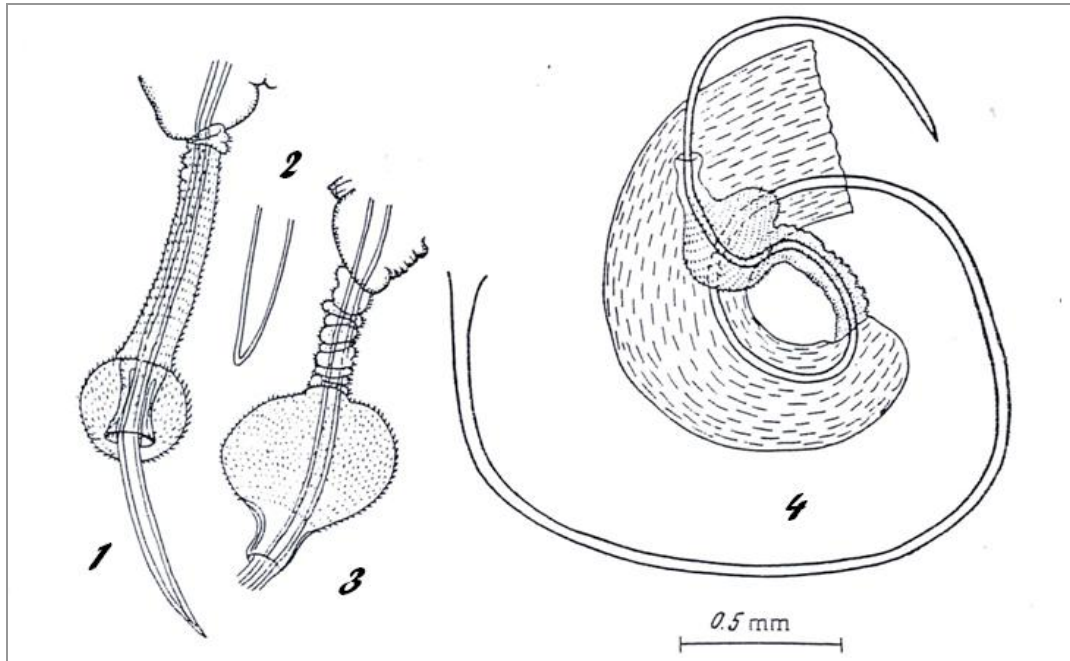
Los machos miden 50-80 mm x 600 μ m y la longitud del esófago es aproximadamente tres cuartas partes de la longitud total del cuerpo. Presenta una espícula de 5-6 mm que termina en punta, y su vaina es larga, tubular y cilíndrica, con espinas puntiagudas (26-30 μ m en la parte proximal y 50-60 μ m en la distal).

Las hembras miden 50-70 x 1 mm y el esófago es de dos a cuatro veces más largo que el cuerpo. La vulva, cuya estructura es similar a dos labios, se sitúa al inicio de la parte gruesa del cuerpo y presenta espinas que no forman hileras definidas.

Trichuris globulosa, Linstow (1901).

Localización: ciego.

Hospedadores: vacas, ovejas, cabras, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. y 4. Extremo posterior del macho con espícula y vaina espicular.
2. Extremo distal de la espícula. 3. Vaina espicular.

Figura 58.- Principales estructuras morfológicas de *Trichuris globulosa*.

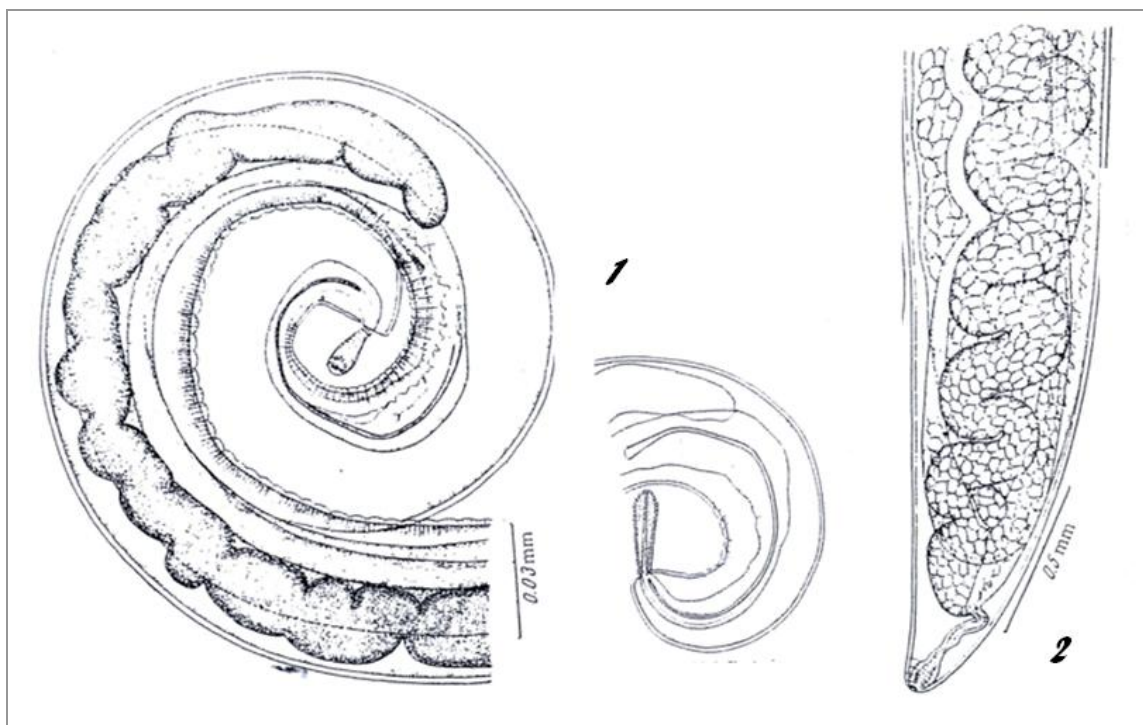
Los machos miden 40-70 mm x 710 μ m; la parte delgada corresponde a los 2/3 de la longitud total del cuerpo. La espícula mide 3,8-5,7 mm x 32-50 μ m. Presenta distalmente, a lo largo de la espícula, una expansión de la cutícula cubierta con espinas de mayor longitud que las de *T. ovis*, siendo más largas en la parte distal de la vaina que en otras zonas.

Las hembras son similares a las de *T. ovis*, miden 40-70 x 0,87 mm y la parte anterior representa $\frac{3}{4}$ partes de la longitud total. La vagina es relativamente corta, gruesa y muscular y en su parte distal tiene numerosas espinas; la parte distal es un tubo estrecho revestido por la cutícula y doblado de tal manera que su protusión se dirige ventralmente.

Trichuris skrjabini, Baskakov (1924).

Localización: ciego y colon.

Hospedadores: vacas, ovejas y cabras.



1. Extremo posterior del macho. 2. Extremo posterior de la hembra.

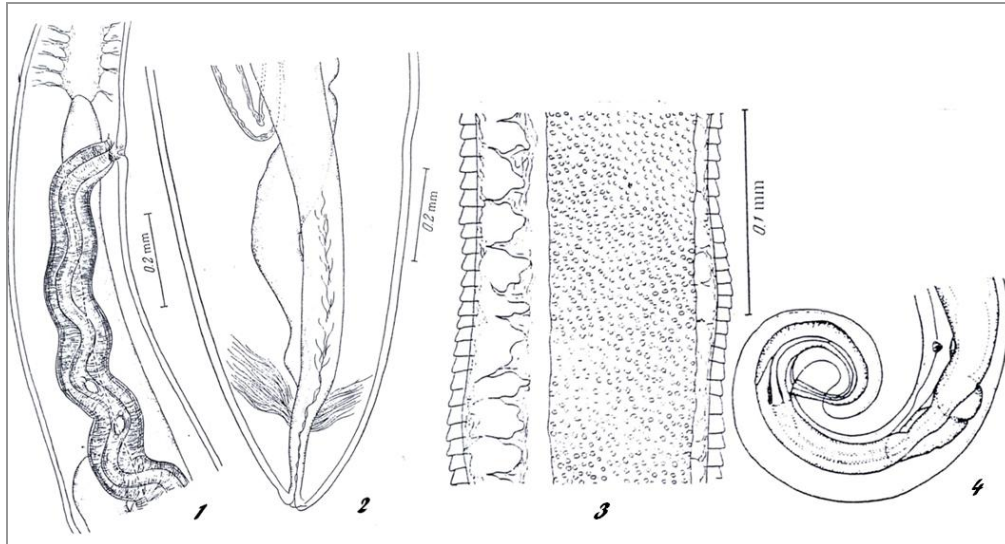
Figura 59.- Principales estructuras morfológicas de *Trichuris skrjabini*.

Los machos miden 45,2-65,6 mm de largo; la longitud de la parte anterior, que es la más larga y delgada, es de 27-41,4 mm, mientras que la de la parte posterior es de 18,2-24,2 mm. La espícula, que presenta un extremo distal romo y un extremo proximal con forma de “manubrio”, está rodeada por una vaina cilíndrica cubierta por numerosas filas de espinas.

La longitud de las hembras oscila entre los 60 y 75,4 mm; la parte anterior mide 40,3-50,1 mm x 200-240 μ m y la posterior 19,7-25,3 x 700-780 μ m. La vulva se sitúa, aproximadamente, en la transición entre el esófago y el intestino, en una profusión cilíndrica cubierta por numerosas espinas que no alcanzan la parte contigua del cuerpo. La vagina presenta gruesas paredes musculares sin ninguna constricción visible.

***Trichuris capreoli*, Artjuch (1948).**

Localización: ciego e intestino grueso.

Hospedadores: **corzos**.

1. Región de la vulva. 2. Extremo posterior de la hembra.
3. Pared. 4. Extremo posterior del macho.

Figura 60.- Principales estructuras morfológicas de *Trichuris capreoli*.

Los machos, cuyo cuerpo es de color amarillo pajizo, tienen una longitud de 53 mm; la parte anterior mide 33 mm x 150 μm y la posterior 20 x 0,56 mm. La parte cefálica presenta una anchura de 47 μm y tiene dos apéndices laterales y semi-ovales de diferente tamaño que se dividen longitudinalmente. Poseen una espícula de 2,372-2,686 mm con el extremo distal ancho (16-18 μm). La vaina de la espícula mide 265-489 μm y la anchura en la parte distal y más gruesa es de 26-68 μm ; la vaina, de forma cilíndrica-tubular, presenta una expansión con forma de “bombilla”. La superficie externa de la vaina está rodeada de espinas de 2,6 μm dispuestas en filas longitudinales y cuyas puntas apuntan hacia el extremo proximal de la vaina; además, las espinas de la expansión en forma de “bombilla” son más largas y gradualmente se hacen más pequeñas hasta desaparecer antes de llegar al extremo proximal.

Las hembras, que también son de color amarillo, miden 38-55 mm; la parte anterior oscila entre 29,88 y 40,46 mm y la posterior entre 8,60 y 12,15

mm. La vulva se localiza en la zona de transición donde la parte delgada se hace más gruesa. La vagina es estrecha y fina.

2.2.2.1.6.- Familia Chabertidae

Género *Oesophagostomum*, Molin (1861).

Las especies de este género se localizan en el intestino grueso y en el ciego; se les denomina “gusanos nodulares” porque forman nódulos en la pared intestinal de sus hospedadores.

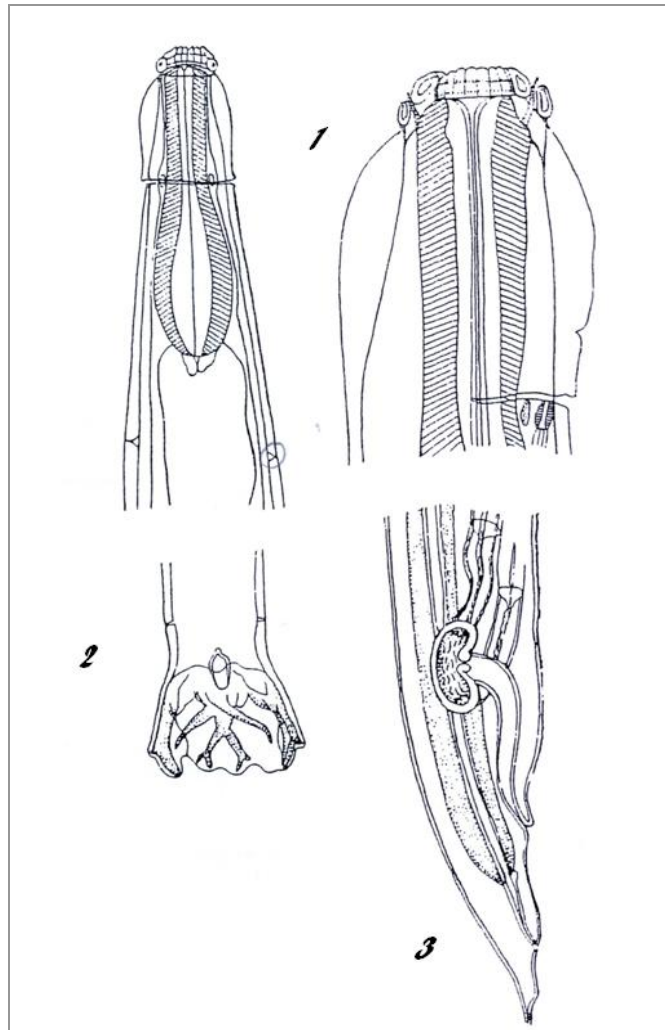
La cápsula bucal de las especies que pertenecen a este género es cilíndrica y estrecha. La cutícula presenta estrías longitudinales y está laxamente dispuesta sobre los tejidos subcuticulares, formando una dilatación en la parte anterior denominada vesícula cefálica, cuyas características permiten identificar las diferentes especies de este género. En la parte ventral, y un poco antes del poro excretor, se encuentra una hendidura transversal que, en algunas especies, se extiende alrededor del cuerpo, siendo incompleta en otras. Poseen aletas laterales y papilas cervicales pero, por el contrario, no siempre tienen papilas prebursales. En los machos, las espículas tienen el mismo tamaño y presentan gubernáculo. En las hembras, la vulva está situada cerca del ano.

Las principales especies son:

***Oesophagostomum venulosum*, Rudolphi (1809).**

Localización: intestino grueso.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 61.- Principales estructuras morfológicas de *Oesophagostomum venulosum*.

Los machos (16 mm x 300-400 μ m) tienen una vesícula cefálica bien desarrollada y papilas cervicales situadas después de la unión del esófago con el intestino. Las aletas laterales, situadas tras las papilas cervicales, están poco desarrolladas y apenas son visibles, al contrario que las papilas prebursales. Las espículas son delgadas y largas (1-2,5 mm) y el gubernáculo también es largo (120 μ m).

Las hembras miden 13-24 mm x 500-600 μ m; la vulva se sitúa a 450-500 μ m de la punta de la extremidad distal, que es corta (150 a 200 μ m) y puntiaguda.

Oesophagostomum columbianum, Curtice (1890).

Localización: intestino grueso.

Hospedadores: ovejas y cabras.

La vesícula cefálica está poco desarrollada, a diferencia de las aletas laterales, que se prolongan casi hasta la parte posterior del cuerpo; las papilas cervicales se encuentran al principio de las aletas laterales.

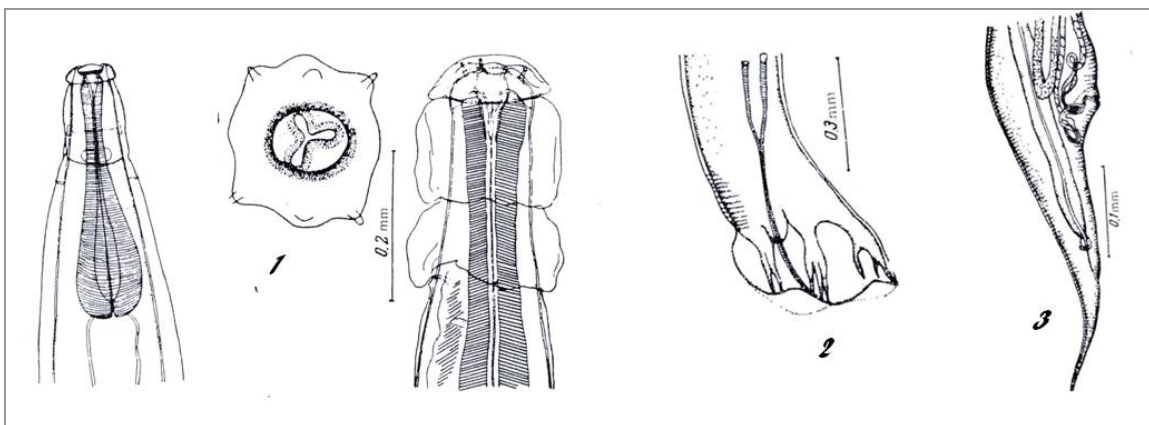
Los machos miden 12-16 mm x 300-400 μ m y presentan papilas prebursales y una bolsa copulatriz bien desarrollada. La costilla dorsal se bifurca en dos ramas que se prolongan paralelamente hasta el borde de la bolsa copulatriz. Las espículas miden 750-850 μ m y son más gruesas que las de *O. venulosum*. El gubernáculo mide 100 μ m de largo.

Las hembras miden 15-20 mm x 300-500 μ m. La vulva se sitúa a 700 a 800 μ m del ano y la extremidad distal mide 300-600 μ m y termina en punta.

Oesophagostomum radiatum, Rudolphi (1803).

Localización: intestino grueso.

Hospedadores: vacas, cebús y búfalos.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 62.- Principales estructuras morfológicas de *Oesophagostomum radiatum*.

La vesícula cefálica está bien desarrollada y tiene un suave estrangulamiento al final del segundo tercio de su longitud. Las papilas cervicales están situadas hacia la mitad de la longitud del esófago y las aletas laterales son anchas y largas.

Los machos miden 14-17 mm x 400 µm y tienen una bolsa copulatriz bien desarrollada. En el lado externo de la costilla dorsal, entre las ramas principal y la lateral, posee una ramificación corta, recta y muy delgada, que termina en una dilatación redonda. Las espículas son delgadas y miden 700-800 µm y el gubernáculo alrededor de 100 µm.

Las hembras tienen un tamaño de 16-22 mm x 300-400 µm; la vulva se sitúa aproximadamente a 1,3 mm de la terminación de la extremidad distal, que es puntiaguda y mide 300-400 µm.

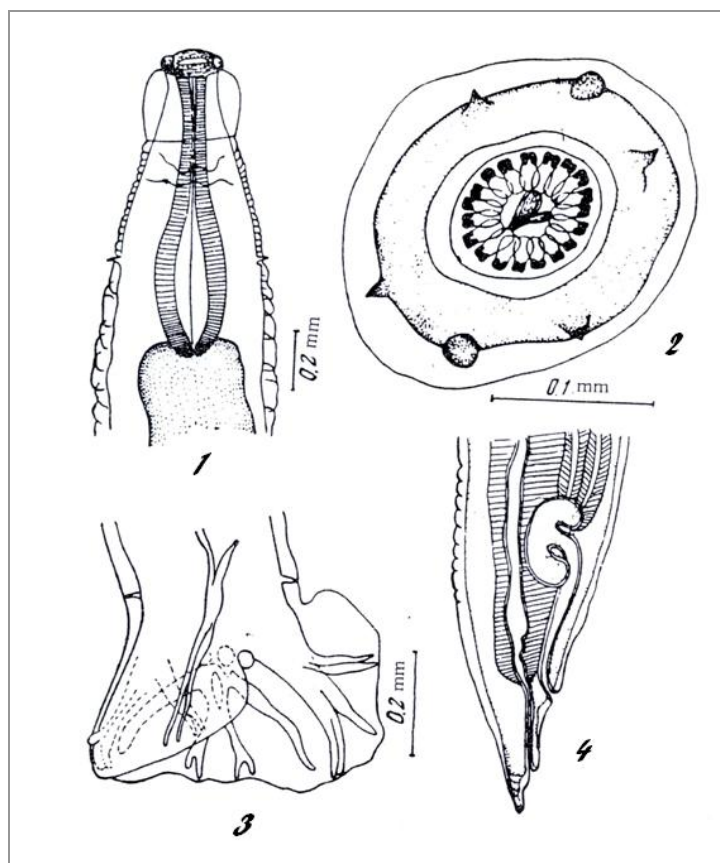
***Oesophagostomum cervi*, Mertz (1948).**

Localización: ciego.

Hospedadores: **ciervos**.

El tamaño de los machos es 10,54-12,16 mm x 399-513 µm. La longitud del esófago está comprendida entre 729 y 893 µm, con una anchura entre 150-190 µm. Presenta papilas prebursales y la bolsa copulatriz es similar a la de *O. venulosum*. Las espículas miden 1,32-1,45 mm y el gubernáculo 80-95 µm.

Las hembras miden entre 13,68-18,89 mm de longitud y 494-630 µm de ancho. El esófago tiene un tamaño de 750-930 x 171-240 µm. La vulva se sitúa 90-225 µm antes del ano. Terminan en una extremidad distal larga y recta que va disminuyendo progresivamente a partir de la vulva.



1. y 2. Extremo anterior. 3. Extremo posterior del macho.
4. Extremo posterior de la hembra.

Figura 63.- Principales estructuras morfológicas de *Oesophagostomum cervi*.

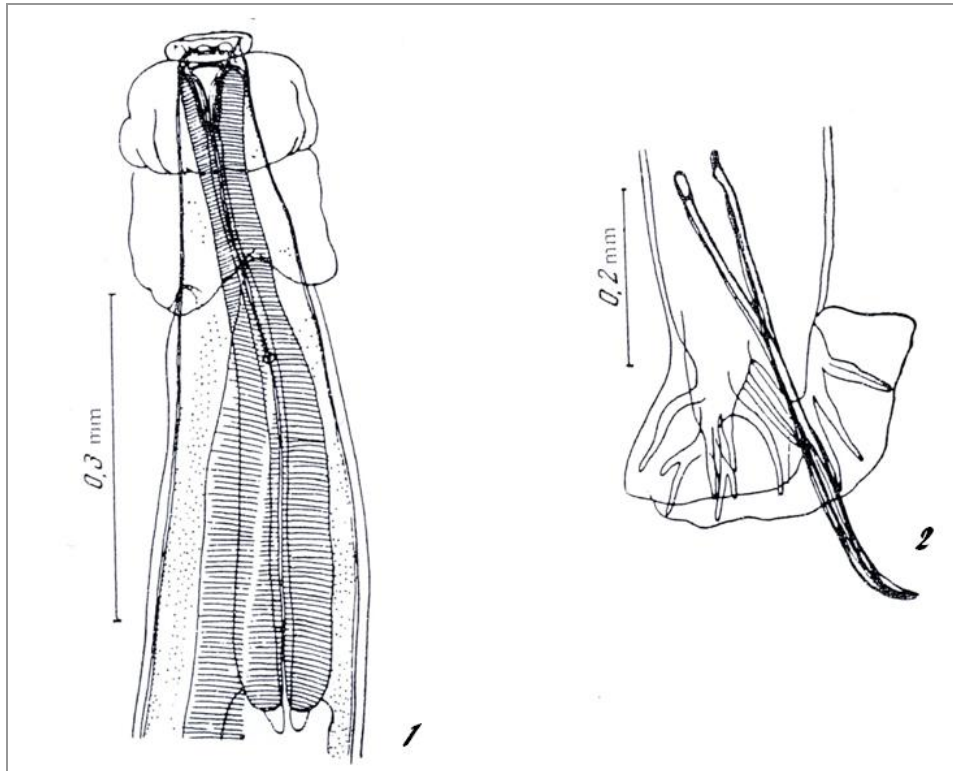
Oesophagostomum sika, Cameron y Parnell (1933).

Localización: ciego e intestino grueso.

Hospedador: **ciervos sika**.

Los machos (9,95-12 mm x 320-360 μm) poseen un esófago que mide 580-630 x 90-110 μm . Se observan dos papilas prebursales laterales. El lóbulo dorsal de la bolsa copulatrix está separado de los laterales por una incisión cercana al final del tronco externo de la costilla dorsal. La costilla ventral y la lateroventral están unidas. Las costillas mediolateral y posterolateral son paralelas y surgen de un tronco común. La costilla dorsal se bifurca y cada rama interior termina en otra más fina. Las espículas miden 550-560 μm y generalmente son de igual longitud aunque una puede ser más corta (430-650 μm).

Las hembras miden 12,9-17,25 mm x 350-450 μ m, y el esófago de 620-700 x 110-130 μ m. La vulva está bien desarrollada y se sitúa a 560-760 μ m del ano. La extremidad distal es puntiaguda y tiene un par de papilas laterales pequeñas cercanas a la terminación.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho.

Figura 64.- Principales estructuras morfológicas de *Oesophagostomum sikaе*.

Género Chabertia. Railliet & Henry (1909).

Las especies de este género se localizan en el intestino grueso. En su extremo anterior presentan un ensanchamiento de la cutícula que forma una pequeña vesícula cefálica. Tienen una hendidura cervical y la cápsula bucal es grande, globulosa, algo alargada y sin dientes en el fondo. La abertura bucal está en posición antero-ventral, con dos coronas de dientes pequeños, triangulares y puntiagudos en su borde.

La bolsa copulatriz es parecida a la que poseen los nematodos del género *Oesophagostomum*, con espículas delgadas y muy largas que se fusionan en su parte distal. Tiene gubernáculo.

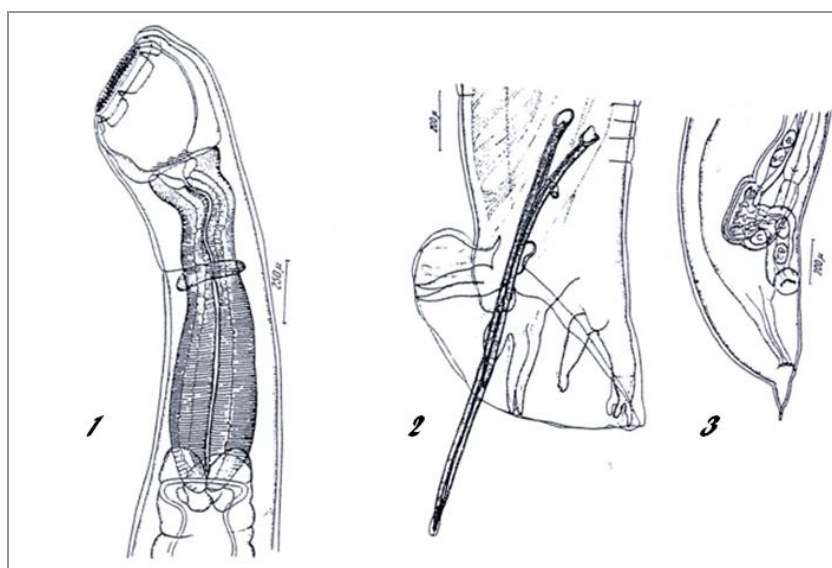
Las hembras tienen la extremidad distal truncada y terminada en una espina; la vulva se sitúa cerca del ano.

La principal especie es:

Chabertia ovina, Fabricius (1794).

Localización: intestino grueso.

Hospedadores: ovejas, cabras, vacas, **corzos** y **otros rumiantes silvestres**.



1. Extremo anterior. 2. Extremo posterior del macho.
3. Extremo posterior de la hembra.

Figura 65.- Principales estructuras morfológicas de *Chabertia ovina*.

Los machos miden 13-14 mm x 320-340 μ m y tienen un esófago largo (1,1-1,35 mm). Presentan papilas prebursales y espículas largas y delgadas (1,3-1,7 mm) con la parte terminal ligeramente aplanada. El gubernáculo mide de 80 a 100 μ m.

Las hembras tienen un tamaño de 17-20 mm x 500 μm ; la parte posterior del cuerpo se va estrechando gradualmente y termina abruptamente en una extremidad distal corta y puntiaguda de 200-230 μm ; la vulva se sitúa a 400-500 μm de la punta de la cola.

2.2.2.2.- Ciclo biológico

Los nematodos gastrointestinales de los rumiantes tienen un ciclo biológico directo, con estadios de vida libre en el medio ambiente y otros de vida parásita. La fase externa comienza con la eliminación de huevos con las heces de los animales infectados (Fig. 66). Los huevos prácticamente son indiferenciables morfológicamente, tienen forma ovoide, son incoloros y de cáscara fina. Su tamaño oscila entre 70-100 μm de longitud por 40-60 μm de anchura, excepto los de *Nematodirus* y *Marshallagia* (>130 μm de longitud) y los de *Capillaria* (60-65 μm). Salen con las heces en fase de blástula, y según la especie, tienen un número variable de blastómeros (16-32). *Nematodirus* se reconoce fácilmente por su tamaño y por tener 8 blastómeros.

Como desarrollaremos en el apartado de epidemiología, la excreción de huevos es variable y depende del hospedador (edad, estado inmunitario, consistencia fecal) y del parásito (prolificidad de las hembras).

Si las condiciones ambientales son adecuadas, los huevos continúan su desarrollo embrionario, dando lugar a las larvas de primer estadio (L-I), que rompen la cubierta del huevo y se nutren de materias orgánicas que hay en las heces; tras dos mudas se transforman en larvas de tercer estadio (L-III), con capacidad infectante para los hospedadores definitivos, que las ingieren con el pasto. La L-III tiene, a diferencia de las dos anteriores, una doble vaina protectora que le impide nutrirse del medio exterior, pero que le confiere una relativa resistencia a las condiciones del medio exterior.

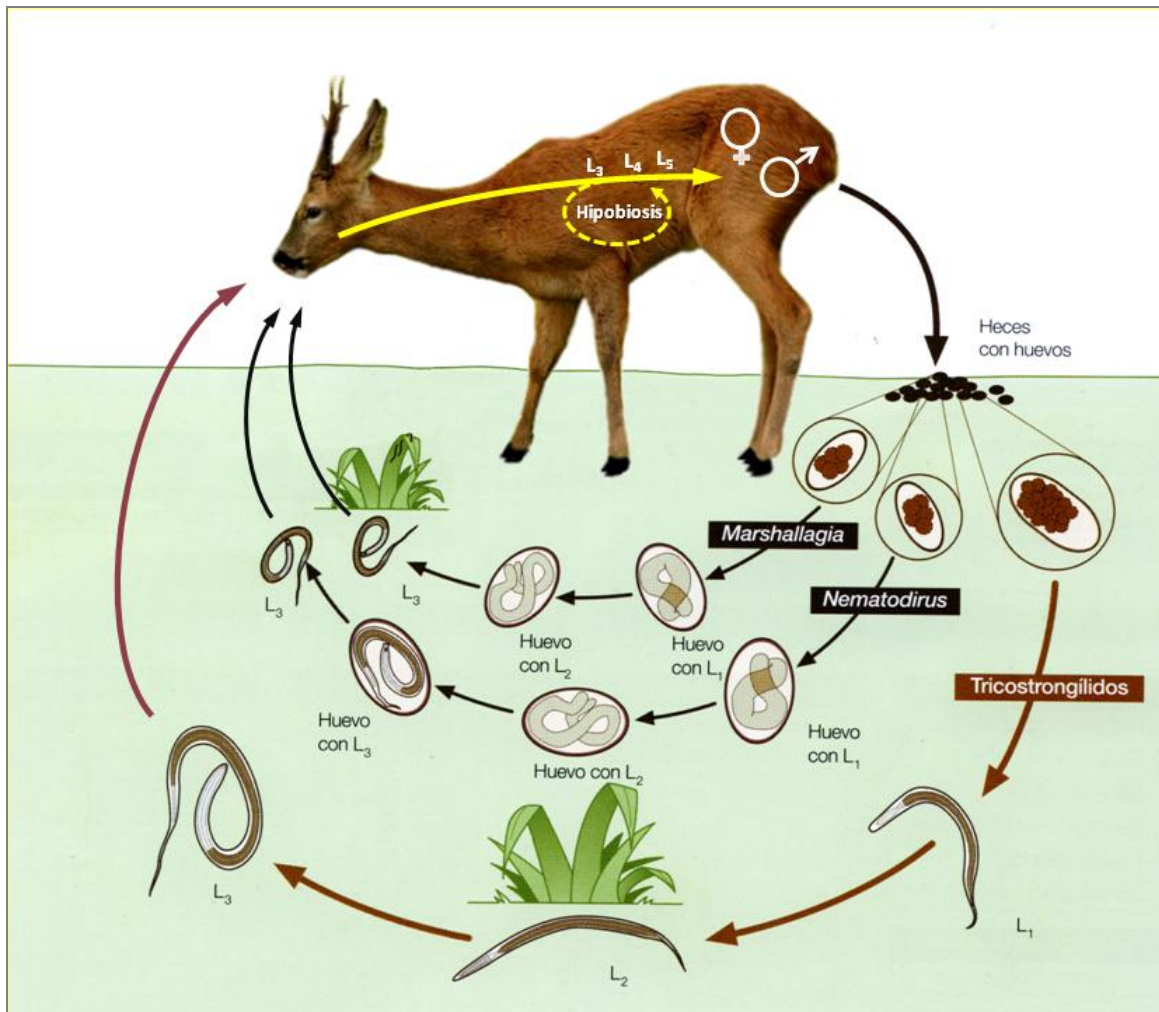


Figura 66.- Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales (adaptado de Valcárcel *et al.*, 2009).

Dentro de este modelo general existen excepciones, como ocurre con el género *Nematodirus*, en el que las L-I y L-II evolucionan dentro del huevo, eclosionando la L-III. Además del Valle *et al.* (1978) señalan que para que la L-III eclosiona del huevo necesita un estímulo consistente en un incremento de la temperatura, previa sensibilización a bajas temperaturas. En el caso de los tricúridos (*Trichuris* spp. y *Capillaria* spp.), los huevos se desarrollan en el suelo hasta el estadio infectante (L-I), provocando la infección al ser ingeridos por los animales.

En circunstancias óptimas las L-III se forman en 5-14 días (5-7 para *Trichostrongylus* spp., *Ostertagia* spp. y *Cooperia* spp.; 14 para *Nematodirus*

spp.), aunque bajo condiciones adversas el desarrollo puede alargarse hasta 3-4 meses.

La fase interna o endógena del ciclo se inicia con la ingestión de los rumiantes, con el pasto, de L-III infectantes o de huevos con L-I en el caso de los tricúridos. Aproximadamente unos 30 minutos después de la ingestión, las larvas pierden la vaina en el aparato digestivo del animal por efecto de diversos estímulos del hospedador (tampón bicarbonato-CO₂, CO₂ gaseoso, etc.). Este estímulo hace que la larva segregue un fluido de muda que actúa sobre la cutícula provocando su ruptura, con lo que la larva, ayudada por sus movimientos, prosigue el ciclo dentro del hospedador.

Las larvas una vez que han perdido la vaina penetran en distintas zonas de la mucosa digestiva. Las especies de *Ostertagia* se sitúan en la zona antroпилórica, en la base de las glándulas gástricas; mientras que, las de *Trichostrongylus* lo hacen en el primer tercio del intestino delgado, entre el epitelio y la membrana basal de la mucosa y las especies de *Cooperia* y *Nematodirus* penetran en la mucosa intestinal entre las vellosidades intestinales.

Una vez en la mucosa intestinal, y según las especies, las larvas mudan de nuevo y pasan a L-IV en el interior de las glándulas o profundamente en los espacios entre las vellosidades intestinales. Después de la última muda, se transforman en L-V o preadultos, que maduran sexualmente y pasan a adultos. Tras la cópula, las hembras comienzan a eliminar huevos, cerrándose así el ciclo.

En determinadas circunstancias, el desarrollo larvario en el hospedador puede detenerse durante cuatro o cinco meses; en el caso de *Ostertagia* inmediatamente después de formarse las L-IV y en *Trichostrongylus*, en fase de L-III. Aunque la naturaleza exacta del estímulo no está totalmente aclarada, el fenómeno denominado hipobiosis o inhibición larvaria tiene lugar cuando las condiciones ambientales son adversas (meses fríos en el invierno europeo; estaciones secas en países africanos). Parece que la capacidad de inhibición

del desarrollo es un carácter heredable, por lo que se considera una adaptación del parásito a la resistencia del hospedador, a factores ambientales adversos, o a ambos a la vez. También influye la edad del hospedador y las infecciones previas que haya tenido.

Las causas de la desinhibición no se conocen, pero este hecho es muy importante desde el punto de vista patológico, pues la desinhibición sincrónica de las larvas hipobióticas puede dar lugar a procesos graves -ostertagiosis de tipo II- al producirse marcados cambios celulares de forma simultánea. Además, este proceso tiene repercusiones epidemiológicas, ya que al coincidir en el tiempo la madurez sexual de los adultos procedentes de larvas hipobióticas se eliminan con las deyecciones de los animales cantidades muy elevadas de huevos que contribuyen de forma significativa a la contaminación ambiental en una época del año favorable para el desarrollo de las L-III, de manera que el riesgo de infección para los animales, sobretodo los jóvenes, es muy alto.

En ausencia de hipobiosis, la duración de la prepatencia es de unos 20 días (15 días en las especies de *Cooperia*, 17 en las de *Trichostrongylus* y *Ostertagia* y 28 días en las de *Nematodirus*).

2.2.2.3.- Epidemiología

Debido a la escasez de estudios que existen sobre la epidemiología de los nematodos gastrointestinales en rumiantes silvestres, en este apartado y como hicimos para los nematodos broncopulmonares, tomaremos como modelo lo que sucede en los rumiantes domésticos.

En la epidemiología de las nematodosis gastrointestinales hay que tener en cuenta diferentes factores: **cinética de excreción de huevos, desarrollo, resistencia y supervivencia de las larvas infectantes en el medio y respuesta del hospedador (factores inmunitarios e hipobiosis).**

Entre los **factores que influyen sobre la cinética de excreción de huevos** cabe destacar: periodo del año, géneros y especies presentes, edad de los hospedadores, estado fisiológico de éstos y tratamientos antihelmínticos.

En zonas con clima templado, Armour y Duncan (1987) señalan que la cantidad de huevos excretados se incrementa notablemente en primavera debido a la reactivación de las larvas infectantes ingeridas en el otoño e invierno anterior, que en respuesta a estímulos ambientales permanecieron inhibidas en el tracto gastrointestinal de los animales. Este hecho ha sido confirmado en diversos estudios realizados en vacas explotadas en Galicia (Mezo *et al.*, 1995; Díaz *et al.*, 2003). Esta elevación primaveral del número de huevos tiene, según estos autores, gran importancia epidemiológica, ya que se produce cuando las condiciones ambientales son más favorables para el desarrollo de las larvas infectantes, coincidiendo además con la existencia de animales jóvenes receptivos.

Se sabe que la composición genérica de la población parasitaria influye sobre la tasa de excreción de huevos, ya que no todos los géneros de nematodos gastrointestinales tienen el mismo potencial biótico. Según Borchert (1975), las hembras de *Haemonchus* eliminan diariamente entre 5000 y 8000 huevos, las de *Oesophagostomum* hasta 5000, *Cooperia* entre 500 y 1000, *Ostertagia* de 500 a 800, *Trichostrongylus* de 100 a 200 y *Nematodirus* entre 50 y 75. Además, Vercruyse *et al.* (1986), al estudiar las cargas parasitarias en cuajares de vacas adultas, hallaron diferencias respecto a la cantidad de huevos presentes en el útero de las hembras de *Ostertagia* y *Trichostrongylus*. El 69% de las del primer género eran inmaduras mientras que todas las del segundo contenían huevos. Sin embargo, Benz (1985) afirma que el número de huevos por gramo de heces no es proporcional a la carga parasitaria y Uriarte *et al.*, (2003) tampoco hallaron correlación entre ambos parámetros.

Respecto al efecto de la edad de los animales, en ganado vacuno, la mayoría de los autores (Cornejo *et al.*, 1986; Scala *et al.*, 2001 y Díaz *et al.*, 2005) señalan que existe una correlación negativa entre la edad de los animales y la prevalencia de infección por nematodos gastrointestinales. Además, en ganado

ovino, Díez-Baños (1989) observó mayor prevalencia e intensidad de infección en los adultos que en los menores de un año; sin embargo en un estudio posterior, Díez-Baños *et al.* (1992a) concluyen que son las interacciones interespecíficas las que más influyen sobre la prevalencia e intensidad de los nematodos gastrointestinales en ovinos en pastoreo mientras que la edad y el área de procedencia no influyen directamente sobre dichas interacciones.

Se han señalado tres mecanismos de respuesta inmune del hospedador que reducen la excreción de huevos en las heces: disminución del porcentaje de larvas ingeridas que llegan a establecerse, menor fecundidad de las hembras e incremento de la expulsión de vermes adultos. No obstante, hay que tener en cuenta que aunque, en general, los animales adultos eliminan escasas cantidades de huevos por gramo de heces, el gran volumen de sus deposiciones hace que el número de larvas infectantes presentes en el pasto pueda alcanzar niveles peligrosos para los animales más jóvenes y receptivos.

En relación con la influencia del estado fisiológico del animal, Urquhart *et al.* (1996), señalaron que el incremento de la excreción de huevos en el parto parece ser el resultado de una depresión temporal de la inmunidad que facilita el desarrollo de larvas inhibidas. En estudios realizados en Galicia, Mezo *et al.* (1995) comprobaron que había un pequeño incremento de las cifras medias de huevos en las inmediaciones del parto y que este periodo de mayor excreción de huevos se prolongaba durante aproximadamente 3 meses. Asimismo, Armour *et al.* (1973) observaron que el porcentaje de larvas que se inhiben aumenta con las reinfecciones, lo que también contribuye a que la eliminación de huevos por parte de los animales adultos sea baja.

Armour y Duncan (1987) y Bisset *et al.* (1987a, b) señalaron que la eliminación periódica de la carga parasitaria mediante tratamientos antihelmínticos puede retrasar el establecimiento de la respuesta inmune. Por tanto, si como consecuencia del tratamiento se elimina parcialmente la carga parasitaria, se puede producir un incremento transitorio del número de huevos, especialmente si el producto utilizado carece de actividad frente a las larvas hipobióticas. Por consiguiente, la desparasitación abusiva de animales adultos

que se mantienen expuestos a nuevas reinfecciones puede contribuir a una importante contaminación del pasto.

Respecto a los factores que influyen sobre el **desarrollo de las larvas infectantes**, se ha comprobado que la humedad y la temperatura intervienen de forma decisiva. Diversos autores han observado que las bajas temperaturas retrasan el desarrollo -y producen elevada mortalidad- que se detiene por debajo de 9°C. Las temperaturas críticas por debajo de las cuales el desarrollo no tiene lugar dependen de la especie, estimándose que son 5°C para *Ostertagia* spp. y 12°C para *Haemonchus contortus*. En la mayoría de las especies, a medida que la temperatura aumenta lo hace también la velocidad del desarrollo hasta alcanzar el máximo alrededor de los 26-27°C, por encima del cual la mortalidad es más elevada.

Otro factor limitante es la humedad, puesto que se desarrollan en un pequeño número si la humedad relativa oscila entre el 70 y 100%, y, en general se requiere un 96% de humedad para que el desarrollo sea óptimo.

La fracción ultravioleta de los rayos solares mata a los huevos y larvas en muy poco tiempo, por lo que la supervivencia de los estadios preinfectantes en el medio ambiente depende en gran medida del grado de protección proporcionado por la vegetación y la materia orgánica existente o por su localización en el interior de la materia fecal.

La **resistencia de las larvas a las condiciones del medio** difiere según los géneros: las de *Trichostrongylus* son muy resistentes a las temperaturas frías extremas, pero son incapaces de sobrevivir en condiciones de altas temperaturas y baja humedad. De esta forma algunas larvas pueden resistir durante el invierno, pero no en las épocas secas y calurosas. Las de los géneros *Ostertagia* y *Teladorsagia* resisten mucho el frío y algo menos la desecación; por eso, las larvas infectantes desarrolladas a partir de huevos depositados en el medio, en el otoño, pueden sobrevivir todo el invierno si la humedad es elevada. Las de *H. contortus* no resisten la desecación ni las bajas

temperaturas. Por su parte, las *Nematodirus* spp. resisten bien la desecación, pero necesitan un cierto aporte hídrico para que las larvas eclosionen.

En relación con *H. contortus*, Dinaburg (1944) obtuvo pocas larvas infectantes por debajo de 18 ° C, temperatura a la que se conoce "Dinaburg line"; asimismo del Valle *et al.* (1978), comparten esta afirmación en infecciones producidas por tricostrongídeos en ganado vacuno de la provincia de León.

Las larvas infectantes también son capaces de sobrevivir en condiciones adversas en el suelo, ya que permanecen enterradas en la tierra y, cuando la temperatura aumenta, emigran hacia la hierba.

Respecto a la **migración larvaria**, se ha comprobado que es necesario que exista una fina película de agua para que se produzca la salida de las larvas infectantes desde las heces hacia la hierba. Por tanto, el número máximo de larvas se encuentra en la hierba en las primeras horas de la mañana y al final de la tarde, cuando la temperatura, humedad e intensidad lumínica son más favorables.

En relación con la intensidad y duración de las precipitaciones, algunos autores señalan que cuando las lluvias son débiles y/o se interrumpen antes de que todas las L-III hayan abandonado las heces, pueden producirse nuevas migraciones si hay precipitaciones posteriores; estas sucesivas salidas de las L-III dan lugar a la contaminación progresiva del pasto.

Otros factores que actúan sobre la traslación de las larvas a la hierba son el viento y la lluvia, porque favorecen la desintegración fecal. Diversos autores han observado que en periodos de sequía la superficie de las heces se vuelve dura y costrosa, imposibilitando la migración larvaria. Por consiguiente, el número de L-III presentes en la hierba resulta muy bajo; sin embargo, tras la aparición de las primeras lluvias se produce un rápido incremento de la contaminación del pasto.

Aunque no se conoce aún bien el papel de algunos invertebrados (lombrices de tierra, escarabajos peloteros) como transportadores de las fases libres, es indudable que pueden ayudar a la dispersión de las mismas, aunque no sea más que por efecto directo del movimiento mecánico de la materia fecal. Las larvas de los tricostrongídeos pueden ser distribuidas por esporas de hongos *Pilobolus* spp. y los psicódidos también parecen ser responsables de la diseminación de estos parásitos.

Respecto al tiempo de **supervivencia de las larvas infectantes** en el medio ambiente, éste varía según las diferentes especies. Las L-III de *Cooperia* y *Ostertagia* mantienen su poder infectante durante al menos 12 meses, mientras que los de *Nematodirus* superan los 23 meses.

En relación con la **respuesta del hospedador**, diversos autores han descrito la **inhibición larvaria** como una detención temporal en el desarrollo del ciclo de los nematodos que se produce en ciertos hospedadores ante determinadas circunstancias o en algunos momentos del año. Normalmente sólo afecta a una parte de la población parasitaria y se produce en un punto concreto del inicio de la vida parasitaria. Según diversos autores, la presencia de vermes adultos provoca la inhibición de las L-III ingeridas; para Michel (1985) y Soulsby (1985) los rumiantes adultos mantenidos durante varias estaciones en pastos contaminados con L-III se muestran resistentes a la reinfección, lo que explicaría que en estos animales el número de larvas que se implantan no está relacionado directamente con el de larvas ingeridas.

El estado fisiológico del animal también influye decisivamente, pues se ha comprobado que en el periparto aumenta la fecundidad de las hembras parásitas y disminuye la capacidad de los animales para eliminar las larvas que ingieren o que reanudan su desarrollo después de un periodo de inhibición.

En diversos países han sido numerosos los autores que han observado la existencia de diferentes cepas en la misma especie de nematodo, con diferencias tanto en la proporción de larvas que responden a los estímulos inductores de inhibición como sobre el momento y la naturaleza de la respuesta. De hecho, las

larvas hipobióticas se incrementan en otoño e invierno en los países templados de Europa.

Borgsteede y Eysker (1987) señalaron que los porcentajes de larvas inhibidas pueden variar considerablemente dependiendo de factores de manejo, como el pastoreo conjunto o por separado de terneros y vacas adultas, o el uso de antihelmínticos en el momento de la estabulación. En este sentido, Coles (1988) afirma que la utilización de antihelmínticos no activos frente a larvas hipobióticas puede seleccionar vermes con tendencia a la inhibición.

Respecto a la desinhibición larvaria, Armour y Bruce (1974) comprobaron que las larvas hipobióticas reanudaban su desarrollo de forma sincrónica y espontánea, independientemente de la estación anual, al cabo de 16-18 semanas postinfección.

Armour y Duncan (1987) afirman que aunque no se ha demostrado claramente que el desarrollo se reinicie tras un fallo inmunitario, sí se ha observado que en animales débiles o sometidos a estrés agudo la maduración de un número considerable de larvas hipobióticas se produce antes de lo normal. Finalmente, Michel (1974) considera que el parto y la lactación no inducen a la reanudación del desarrollo de las larvas hipobióticas; aunque, en el parto, la proporción de larvas que se inhiben desciende considerablemente.

Según Meana y Rojo (1999), los mecanismos de resistencia del hospedador para evitar cargas parasitarias elevadas tras infecciones continuas se pueden resumir en cuatro apartados:

A.- Resistencia al establecimiento de los vermes o paulatina eliminación de los mismos, diferenciando entre la resistencia natural, de origen genético, y la resistencia adquirida con la edad. Se han descrito dos tipos de mecanismos de regulación de la resistencia a las infecciones:

- La carga parasitaria se encuentra regulada por la corta vida media de los parásitos, con una pérdida constante de adultos y relacionada con el

número de larvas ingeridas, que no se ve afectada por la administración de cortisona, lo que hace suponer que dicha regulación no está mediada inmunológicamente.

- Se requiere un umbral mínimo de estímulo antigénico para que haya resistencia al asentamiento de los vermes o a su expulsión. De esta forma, cuando disminuye la dosis, aumenta el tiempo de respuesta necesario. La respuesta varía en animales inmunodeficientes, por lo que, rebasado un cierto umbral, la respuesta inmunitaria del hospedador evita cargas parasitarias masivas.

B.- Disminución en la prolificidad de las hembras: en animales resistentes, las hembras parásitas eliminan un menor número de huevos y éstos se desarrollan más lentamente. La respuesta inmunitaria del hospedador impide la adecuada alimentación del parásito, con las consecuencias que ello tiene en su desarrollo y capacidad reproductora.

C.- Autocuración: se produce un drástico descenso en la excreción fecal de huevos en animales expuestos a infecciones y reinfecciones por *H. contortus*, debido a la expulsión masiva de adultos. Depende de una reacción de hipersensibilidad de la mucosa gástrica al estímulo de nuevas larvas, pero no parece estar inmunológicamente mediada, pues aparece en animales adultos y jóvenes con altas y bajas cargas parasitarias.

D.- Inhibición del desarrollo larvario: los factores ambientales son determinantes en la inhibición del desarrollo. Además de causas climáticas, se admite una respuesta del hospedador frente a la ingestión continua de larvas, provocando un alargamiento en el tiempo de desarrollo endógeno. Por ejemplo, se encuentran menor número de larvas inhibidas de *H. contortus* en animales primoinfectados que en animales que ya poseían una población parasitaria anterior.

Uriarte *et al.* (1985) observó que el ganado vacuno que pastaba por segundo año presentaba una cierta resistencia a los nematodos

gastrointestinales que se manifestaba principalmente por la reducción de la capacidad de puesta de huevos de las hembras.

Almería *et al.* (1996) estudiaron las fluctuaciones mensuales de nematodos gastrointestinales en ganado vacuno mantenido en pastoreo extensivo en el pirineo aragonés, concluyendo que, como sucede en otras regiones del hemisferio Norte, en el que se registran bajas temperaturas, el porcentaje más elevado de larvas inhibidas se observó en otoño (63,4% para *Ostertagia* spp. y 89,3% para *Cooperia oncophora*). Asimismo, comprobaron que se observaban niveles de inhibición similares en los animales trazadores y en los que estaban permanecían en pastoreo permanente, por lo que consideraron que las exposiciones previas a las infecciones gastrointestinales no son la causa primaria de la inhibición larvaria.

Los mecanismos de resistencia dependen de respuestas inmunitarias adquiridas tras el contacto con los parásitos y de la capacidad fisiológica innata de los animales para adaptarse a la infección. La existencia de la respuesta inmunitaria protectora se demuestra por el súbito aumento en la eliminación de huevos tras la administración de fármacos inmunosupresores, que liberan a los nematodos del control ejercido por el hospedador.

En esta respuesta inmunitaria están involucrados tanto componentes específicos (respuesta celular y humoral) como inespecíficos (respuesta inflamatoria). La inmunidad frente a los nematodos gastrointestinales depende directamente de la respuesta celular de linfocitos T, incluye importantes alteraciones inflamatorias en la mucosa, y también se ve facilitada por la presencia de anticuerpos específicos frente a los nematodos.

Otras características de la respuesta inmunitaria son la especificidad y memoria inmunológica. La protección obtenida frente a una especie concreta no incluye a otras filogenéticamente próximas y la respuesta humoral de anticuerpos en primoinfecciones es mayor en animales adultos que en animales jóvenes (al nacimiento no existe respuesta linfocitaria en rumiantes ya que se desarrolla durante los primeros 5 meses de vida).

El tipo de respuesta está condicionada por las variaciones antigénicas que presentan los nematodos, a consecuencia de la existencia de distintas fases de desarrollo dentro del hospedador y al hecho claro de poseer dentro de cada fase distintos tipos de moléculas: las que se expresan en la superficie y las que se desprenden del parásito (segregadas/excretadas). Aunque se desconoce la función biológica de muchas de ellas, es innegable su papel como antígenos, alérgenos o moduladores de la respuesta inmunitaria, inflamatoria o en ambas.

Las respuestas inmunitarias eficaces tienen una serie de características según las distintas fases de desarrollo. Así, se observa que la respuesta frente a larvas infectantes evita su asentamiento y da lugar a su eliminación a las pocas horas de ser ingeridas y está relacionada con la presencia de elevadas cantidades de inmunoglobulinas (IgA), histamina y leucotrienos en el mucus. La acción frente a las L-IV conlleva su eliminación o la ralentización de su desarrollo (hipobiosis). En cuanto a los adultos, las respuestas inmunitarias eficaces repercuten en la habilidad del hospedador para mantener la carga parasitaria en niveles bajos o reducir la fecundidad de las hembras.

Todas estas respuestas están genéticamente reguladas y hasta el momento se han definido una serie de marcadores útiles para conocer la capacidad de resistencia de los rumiantes a estas infecciones.

2.2.2.4.- Manifestaciones clínicas

Las infecciones por nematodos gastrointestinales están asociadas a una serie de signos clínicos entre los que destacan, menor ganancia de peso, mal estado general, inapetencia y, frecuentemente, diarrea. Asimismo, hay cambios característicos en la composición de la sangre como hipoalbuminemia y anemia (Rojo *et al.*, 1997; Meana y Rojo, 1999).

La aparición de signos clínicos en las infecciones por nematodos gastrointestinales está relacionada con factores que dependen del parásito (ciclo endógeno de las especies implicadas, número de larvas ingeridas) y del hospedador (edad, receptividad, hábitos alimentarios, estado nutricional, etc.).

La anorexia es uno de los principales signos clínicos y la reducción del consumo puede ser desde un 20% en infecciones producidas por *Ostertagia* hasta el 55% en las de *Trichostrongylus*. Las causas no se conocen con claridad, aunque el dolor puede ser responsable de algunos cuadros anoréxicos.

En cuanto a los trastornos digestivos, la diarrea puede aparecer en infecciones moderadas y graves producidas por los nematodos gastrointestinales más frecuentes, excepto *Haemonchus* spp. En infecciones por *Ostertagia* y *Teladorsagia* spp., la aparición de diarrea coincide con la maduración de las larvas de quinto estadio. La elevación del pH gástrico favorece el incremento de la población bacteriana, lo que contribuye a la patogenia de la diarrea. Además, la atrofia de las vellosidades intestinales permite la instauración de un síndrome de malabsorción, cuya consecuencia clínica es la diarrea, que incrementa la pérdida de agua fecal y de electrolitos; además, se pierde sodio, potasio, cloruro y bicarbonato originándose acidosis, deshidratación e insuficiencia renal.

La anemia es un signo característico de las infecciones por especies hematófagas, como *H. contortus*, aunque también puede observarse en animales que padecen un cuadro crónico causado por especies no hematófagas. En este caso, sería más una consecuencia de deficiencias nutritivas asociadas a la anorexia y a la excesiva pérdida de proteínas plasmáticas a través de la mucosa digestiva que a una pérdida real de sangre (Taylor *et al.*, 2007; Bowman *et al.*, 2011).

En relación con las proteínas plasmáticas, una de las alteraciones más características de las infecciones por nematodos gastrointestinales es la hipoproteinemia, con un marcado descenso de la albúmina. En

primoinfecciones de ganado vacuno por *Ostertagia ostertagi*, la pérdida de proteínas plasmáticas se ha atribuido a cambios físicos en la mucosa gástrica, con disociación de las uniones intercelulares de las células epiteliales y áreas de destrucción celular. Por el contrario, en animales que han tenido un contacto previo con los parásitos, la pérdida de proteínas plasmáticas parece estar relacionada, sobre todo, con un incremento en la permeabilidad de la mucosa, producido por una reacción inmunitaria a las larvas.

Se han descrito alteraciones en la concentración de otras proteínas plasmáticas, como IgM e IgA. En general, se aprecia un incremento en la fracción gamma-globulina, relacionada con la respuesta inmunitaria, lo que unido a la hipoalbuminemia origina una disminución en el cociente albúmina/globulinas.

La mayoría de las infecciones son leves y no producen manifestaciones clínicas evidentes. Sin embargo, las infecciones por nematodos gastrointestinales dan lugar a signos clínicos cuya intensidad es variable, sobre todo en los animales más jóvenes que pueden albergar cargas parasitarias mucho más elevadas que los adultos. En este sentido, se pueden considerar dos formas clínicas: aguda y crónica.

La “forma aguda” es frecuente en los animales jóvenes; consiste en una gastroenteritis catarral con diarrea, deshidratación y ligera anemia. Los animales no ganan peso y al tener diarrea adelgazan rápidamente. Una imagen característica es la aparición de los animales con los cuartos traseros manchados («diarrea negra de los corderos»).

La “forma crónica” es más frecuente en los animales adultos y se caracteriza básicamente por emaciación y los animales pierden progresivamente el apetito con disminución del peso corporal hasta llegar a una atrofia de la musculatura esquelética.

En las infecciones por nematodos gastrointestinales no hay signos patognomónicos, pero puede considerarse que cada especie parásita ocasiona unos síntomas que predominan sobre los demás.

En las infecciones por *Trichostrongylus* hay descenso acusado del apetito y del peso corporal en pocos días. Afecta principalmente a animales jóvenes que eliminan heces diarreicas muy oscuras.

Las infecciones por *Cooperia* y *Nematodirus* se caracterizan por enteritis y diarrea profusa.

En las infecciones por *Ostertagia* spp. el signo más sobresaliente es la diarrea intensa. En el ganado vacuno se han descrito 2 tipos de ostertagiosis:

La ostertagiosis de tipo I aparece, en el hemisferio norte, al final del verano en los animales que pastan por primera vez. La diarrea no cesa durante 3-4 días y no cede tras la administración de diferentes tratamientos. Los animales están apáticos, deshidratados, inapetentes y los más débiles pueden morir. Los niveles de pepsinógeno están elevados (> 3000 miliunidades de Tirosina) y se eliminan entre 100 y 2000 huevos por gramo de heces. En la necropsia se observa una marcada hiperplasia del cuajar y los animales están parasitados por un elevado número de nematodos gastrointestinales (10.000-15.000).

La ostertagiosis de tipo II se presenta a partir de marzo en animales estabulados desde el otoño, pero que pastaron el año anterior. Se debe a la desinhibición sincrónica de larvas hipobióticas. Se caracteriza por una grave diarrea crónica y gran emaciación donde hasta el 30 % de los animales pueden morir. El pepsinógeno está elevado, hay hipoalbuminemia y se eliminan pocos huevos en las heces. En la necropsia, se observa hiperplasia del cuajar y un elevado número de parásitos (hasta 200.000), muchos de ellos vermes (60%) inmaduros.

El signo predominante en las infecciones por *Haemonchus* spp. es la anemia. La forma sobreaguda aparece en animales muy jóvenes en su primer año de pastoreo, expuestos a una infección masiva. La anemia se desarrolla rápidamente, hay gastritis hemorrágica intensa y muertes en el período de prepatencia. Las infecciones por *Haemonchus* también pueden cursar de forma aguda o crónica. En las infecciones agudas hay anemia, hipoproteinemia y edemas en algunas zonas, como en la región submandibular (papo). Generalmente los animales mueren y en la necropsia se observa que estaban parasitados por un elevado número de vermes (1.000 y 10.000). La forma crónica de la hemoncosis es la más común y cursa con una morbilidad del 100% y baja mortalidad. La anemia e hipoproteinemia dependen de la capacidad eritropoyética del animal y de sus reservas nutricionales y de hierro. En la necropsia, aunque el número de parásitos sea bajo (100-1.000), se puede observar gastritis hiperplásica y alteraciones crónicas de la médula ósea.

Las lesiones que se observan en los animales muertos como consecuencia de infecciones por nematodos gastrointestinales son de 2 tipos: las específicas, que se limitan al tracto digestivo, y las relacionadas, de alguna manera, con las especies implicadas; además, hay otras inespecíficas debidas a trastornos generales, como emaciación, deshidratación, anemia, diarrea, etc. (Rojo *et al.*, 1997).

En las infecciones producidas por *Trichostrongylus* se observa un cuadro de enteritis aguda. Hay hiperemia y edema en la mucosa del intestino delgado, con exudado catarral que, en caso extremos, es de tipo diftérico.

Únicamente en infecciones graves por *Nematodirus* se observan alteraciones en el cadáver que consisten en una ligera enteritis catarral que afecta a veces al cuajar y al ciego.

El intestino de los animales parasitados por *Cooperia* no suele presentar lesiones específicas y, a veces, solo se observa una inflamación moderada; no obstante, en infecciones graves se producen numerosas hemorragias en la

superficie de la mucosa intestinal, apareciendo un exudado catarral en el resto del intestino delgado.

En las infecciones por *Haemonchus*, macroscópicamente son notables las consecuencias de la anemia: mucosas y piel pálida, sangre acuosa, hidrotórax, ascitis, hidropericardias. El contenido gástrico es de color pardorrojizo y se observa la presencia de vermes de la misma tonalidad. En toda la mucosa gástrica aparecen petequias, edemas y erosiones.

En los animales infectados por *Ostertagia* se observa hiperplasia gástrica intensa, con presencia de nódulos visibles de 2-3 mm, con un orificio central si la larva ha salido ya a la luz gástrica. En infecciones intensas, esta reacción hiperplásica nodular da lugar a la aparición de una mucosa con aspecto característico de «cuero repujado».

2.2.2.5.- Diagnóstico

Debe realizarse basándose en los datos clínicos, epidemiológicos, análisis de laboratorio y estudios *post-mortem*.

El **diagnóstico clínico** es difícil, ya que las manifestaciones más frecuentes, como diarrea, falta de apetito, adelgazamiento y anemia pueden aparecer también en otros procesos. Sin embargo, todos estos signos son orientativos y aportan una información valiosa cuando se relacionan con **datos epidemiológicos**; en este sentido, deben sospecharse infecciones intensas por nematodos gastrointestinales en rebaños en pastoreo o recientemente estabulados en los que se aprecia un deterioro del estado general en muchos animales: algunos están depauperados, anoréxicos, tienen trastornos gastrointestinales y se producen muertes en goteo. Cuando el género predominante es *Haemonchus*, la intensa anemia, sobre todo en animales jóvenes, junto con los casos de muertes súbitas, sospechar de la posibilidad de esta infección; sin embargo, este diagnóstico de presunción requiere confirmación.

Los **análisis de laboratorio** son imprescindibles para confirmar el diagnóstico clínico-epidemiológico, aunque ninguna de las pruebas analíticas disponibles tiene por sí sola valor determinante.

Una característica común a los diferentes análisis que se realizan en el laboratorio es la gran heterogeneidad de los resultados. Por esta razón, estas pruebas carecen de valor individual y han de extenderse al conjunto del rebaño. En consecuencia, todos los aspectos relacionados con el muestreo de los animales tienen gran importancia.

Los análisis en el laboratorio se pueden realizar "*in vivo*" mediante análisis coprológicos y sus correspondientes coprocultivos para identificar las L-III o bien "*post-mortem*" recuperando los vermes del contenido gástrico e intestinal, siendo este último el más específico para la identificación de los nematodos y determinación de la carga parasitaria.

Asimismo, se realiza el análisis de la hierba para cuantificar e identificar los géneros de las larvas presentes en el pasto y así poder conocer el riesgo potencial de infección al que están expuestos los animales durante el pastoreo.

Mediante la determinación de los niveles de pepsinógeno sérico puede detectarse precozmente la infección; este método proporciona buenos resultados siempre que se realice a nivel de rebaño, puesto que existen grandes variaciones individuales.

Las técnicas inmunológicas son cada día más utilizadas, aunque debido a la complejidad antigénica de estos nematodos, todavía no resultan muy específicas ni sensibles.

En el animal vivo, la determinación del número de huevos por gramo de heces es la única manera de precisar si están o no parasitados, aunque las técnicas que se utilizan (método de McMaster y sus modificaciones o variantes) tienen sus limitaciones. No obstante, con independencia de los errores de la técnica utilizada, el número de huevos en las heces está influido por una serie

de factores (prolificidad de las hembras, distribución no homogénea de los huevos en la masa fecal, estado inmunitario) que deben valorarse al interpretar los resultados. Como señalamos anteriormente, los huevos de nematodos gastrointestinales, excepto los de *Nematodirus*, *Marshallagia*, *Trichuris* y *Capillaria* tienen características morfológicas muy similares, por lo que es difícil su diferenciación.

El método más adecuado para la identificación genérica de los nematodos gastrointestinales es el cultivo de las heces o «coprocultivo», y posterior estudio de los caracteres morfológicos de las L-III que se desarrollan a partir de los huevos.

De las determinaciones enzimáticas, la del pepsinógeno plasmático es la más utilizada en el diagnóstico de la ostertagiosis de tipo II. En animales sanos, el valor del pepsinógeno sérico es de 450 ± 150 miliunidades de tirosina; en la ostertagiosis se alcanzan cifras seis o siete veces superiores a las basales. No obstante, la gran dispersión de los valores de pepsinógeno entre animales hace que la prueba no tenga valor individual y solamente sea aplicable a grupos de animales.

Algunas constantes hemáticas (número de glóbulos rojos, valor hematocrito y tasa de hemoglobina) permiten valorar el tipo e intensidad de la anemia en los animales parasitados. La determinación de las proteínas séricas y del cociente albúmina/globulina puede ser de interés en el diagnóstico y pronóstico, si bien la disminución de la albúmina y de la proteína total no es exclusiva de las infecciones por nematodos gastrointestinales.

Si se tiene en cuenta que frecuentemente las manifestaciones clínicas debidas a los nematodos gastrointestinales se producen también en otras enfermedades (fasciolosis, coccidiosis, deficiencias de cobre, etc.) y que los resultados de los análisis de laboratorio tampoco son definitivos, siempre que sea posible hay que acudir al **estudio post-mortem**.

La necropsia de los animales muertos es uno de los métodos mejores para obtener una impresión de conjunto sobre la gravedad e intensidad de la infección ya que permite observar la localización de las lesiones y el tipo de alteración, así como la obtención y recuento de los vermes parásitos.

Para obtener los vermes se sigue la técnica descrita en MAFF (1986), ligeramente modificada; una vez ligado y separado el abomaso, intestino delgado, grueso y ciego, estos se abren y su contenido se lava con agua tibia a presión para desprender bien todos los nematodos; a continuación, se filtra a través de tres tamices de 1500, 400 y 150 μm de diámetro de poro colocados en columna.

El material procedente de la filtración se recoge en copas de sedimentación, se homogeneiza y se obtiene una alícuota de la cual se extraen los adultos bajo estereomicroscopio y con ayuda de una aguja entomológica. Después de cuantificarlos, se montan en lactofenol azul de algodón y se identifican al microscopio.

El recuento del número total de los nematodos constituye una medida del grado de infección. En líneas generales, cifras menores a 2.000 parásitos adultos se pueden considerar infecciones ligeras; intensas, en las que se observan más de 10.000, y a partir de 50.000 se consideran infecciones masivas.

Es de sobra conocido que los rumiantes suelen estar parasitados por más de una especie de nematodo gastrointestinal.

En **ganado ovino** sacrificado en un matadero de León, Díez-Baños (1989) identificó en el abomaso 9 especies (*Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata*, *Ostertagia occidentalis*, *Trichostrongylus. axei*, *T. colubriformis*, *T. capricola*, *T. vitrinus*, *Marshallagia marshalli* y *Haemonchus contortus*), comprobando que las infecciones triples eran las más frecuentes y estaban integradas en su mayor parte por *T. circumcincta*, *T. trifurcata* y *T. axei*. Posteriormente, Díez-Baños *et al.* (1992b) examinaron el contenido abomasal

de 705 ovinos de raza churra de la provincia de León, y tras recuperar un total de 160.814 nematodos adultos (96.867 hembras) comprobaron que la relación hembra/macho era de 1,5; señalando una intensidad media de parasitación de $1.347 \pm 99,03$. Además, en ovejas sacrificadas en un matadero de Murcia y en ciervos abatidos en la provincia de León (Garijo *et al.* 2009; Hidalgo *et al.*, 2010) comprobaron que, en general, las hembras eran más abundantes que los machos.

Uriarte *et al.* (2003) realizaron un estudio sobre las fluctuaciones mensuales de la carga de nematodos gastrointestinales en ovejas en pastoreo en el valle del Ebro, observando 3 infecciones; la derivada de los huevos depositados en el otoño anterior que dio lugar a la primera infección de los animales en enero y mayo y a la contaminación por los pastos; la segunda infección se observó entre junio y julio y fue la fuente de infección más importante provocando, en los corderos en pastoreo permanente, diarrea y disminución de las tasas de crecimiento y la tercera infección tuvo lugar en octubre y noviembre, siendo responsable de las futuras infecciones durante el invierno. *Teladorsagia circumcincta* fue la especie predominante, seguida de *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*; además, comprobaron que el mayor número de vermes recuperados, tanto en los corderos trazadores (7.900) como en los que estaban en pastoreo permanente (19.200), se observaba en julio.

Gómez-Rincón *et al.* (2006) comprobaron que el 76,6% de los nematodos recuperados se hallaban en el abomaso; siendo *Teladorsagia circumcincta* la especie más frecuente (39,3%; $\bar{x} = 4.306$), seguida de *Trichostrongylus axei* (37,3%; $\bar{x} = 5.539$). En intestino delgado las especies más prevalentes fueron *T. vitrinus* (17,1%; $\bar{x} = 2.725$) y *Nematodirus spathiger* (5,5%; $\bar{x} = 681$).

En **ganado vacuno**, en abomaso e intestino delgado de vacas sacrificadas en León, del Valle *et al.* (1978) hallaron 9 especies (*T. trifurcata*, *O. ostertagi*, *O. lyrata*, *T. axei*, *T. vitrinus*, *H. contortus*, *Cooperia punctata*, *C.*

oncophora y *Nematodirus helvetianus*) y señalaron que las infecciones puras eran las más prevalentes, seguidas en orden decreciente, por las triples, dobles, cuádruples y quintuples; asimismo, García Romero (1992), en el abomaso y el intestino delgado de vacas sacrificadas en Galicia, halló 9 especies (*T. circumcincta*, *O. ostertagi*, *O. lyrata*, *C. punctata*, *C. oncophora*, *C. macmasteri*, *N. helvetianus*, *T. axei* y *H. contortus*).

En terneras que pastaban con sus madres, en praderas de regadío, hasta los 9 meses de edad, Uriarte *et al.* (1982) señalaron que las cargas medias más elevadas se hallaban en cuajar (7.167) y que estas cifras eran sensiblemente inferiores en intestino delgado (276) y grueso (11); en cuajar identificaron 6.607 ejemplares de *Ostertagia ostertagi* y 560 de *Trichostrongylus axei*; en intestino delgado la mayoría de los adultos (243) pertenecían al género *Cooperia* y con menor intensidad (33) se identificó *Capillaria bovis*; en intestino grueso identificaron *Oesophagostomum radiatum* y *Trichuris ovis*.

Almería *et al.* (1996) estudió las fluctuaciones mensuales de la carga parasitarias de nematodos gastrointestinales en ganado vacuno mantenido en pastoreo extensivo en el pirineo aragonés, identificando las siguientes especies: *Ostertagia ostertagi*, *O. lyrata*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei*, *Cooperia oncophora*, *Trichostrongylus longispicularis*, *Capillaria bovis*, *Nematodirus helvetianus*, *Oesophagostomum radiatum*, *Chabertia ovina* y *Trichuris* spp. La especie predominante fue *O. ostertagi* seguida de *C. oncophora* y *T. axei*. En el ganado que pastaba de forma permanente, se hallaron las cifras máximas (8.000 vermes) y medias (5.825) más elevadas.

En un estudio posterior realizado también en ganado vacuno en pastoreo en el Pirineo aragonés, Almería *et al.* (2000) comprobó que todos los animales sacrificados albergaban adultos de nematodos gastrointestinales e identificó las mismas especies que en el estudio anterior, siendo *Ostertagia ostertagi*, la más prevalente (100%) y abundante ($\bar{x} = 3.592$), seguida de

Cooperia oncophora (100%; \bar{x} = 1.145) y *Trichostrongylus axei* (100; \bar{x} = 818), siendo las asociaciones entre ellas las más frecuentes. Además, hallaron una gran desproporción en la carga parasitaria del cuajar respecto a las del intestino delgado y grueso, especialmente en animales que solo habían pastado un mes; mientras que, según se incrementaba el tiempo de pastoreo, se observaban menores diferencias en las cargas parasitarias que había en los 3 tramos, aunque siempre en cuajar se observaba mayor número de nematodos. Es de destacar que estos autores señalan que la presencia de *Teladorsagia circumcincta* y *Chabertia ovina*, más típicas de ganado ovino pueda deberse al hecho de que el ganado vacuno compartía pastos con los ciervos, ya que en esa zona hacía varios años que no pastaba ganado ovino.

Nogareda *et al.* (2006) en ganado vacuno en pastoreo en zonas con clima atlántico, en la necropsia identificaron *Ostertagia ostertagi*, *O. lyrata*, *Cooperia oncophora*, *C. macmasteri*, *C. punctata* y *Trichuris ovis*, siendo *O. ostertagi* y *C. oncophora* las especies predominantes.

Respecto al diagnóstico anatomopatológico, en los brotes agudos la mucosa del tracto digestivo está inflamada, cubierta de mucus y a veces hemorrágica, mientras que en los crónicos la mucosa está engrosada, ulcerada y con zonas focales blanquecinas donde se alojan las fases inmaduras y las inhibidas.

2.2.2.6- Prevalencia de los nematodos gastrointestinales en el corzo

En este apartado, haremos referencia a los principales trabajos realizados sobre la prevalencia de infección por adultos de nematodos gastrointestinales en corzos abatidos en **EUROPA**.

Aguirre *et al.* (1999) examinaron 144 corzos procedentes de **SUECIA**, señalando a *Trichostrongylus axei* (25%) como la especie más prevalente, seguida de *Ostertagia ostertagi* (17%), *Nematodirus spp.* (16%), *Trichostrongylus colubriformis* (12%), *Trichuris ovis* (10%), *Nematodirus filicollis*

(9%), *Ostertagia leptospicularis* (8%), *Spiculopteragia mathevossiani* (7%), *Trichostrongylus capricola* (4%), *Spiculopteragia spiculoptera* (4%), *Ostertagia lasensis* (3%), *Chabertia ovina* (3%), *Teladorsagia circumcincta* (2%), *Cooperia curticei* (2%), *Trichostrongylus vitrinus* (1%), *Teladorsagia trifurcata* (1%) *Spiculopteragia böhmi* (1%) y *Capillaria spp.* (1%).

En **BIELORRUSIA**, Kochko (1997) observó que el 90% de los corzos albergaban adultos de nematodos gastrointestinales. En un elevado porcentaje de animales (64-73%) identificaron *Trichostrongylus colubriformis*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Trichuris* y *Oesophagostomum*.

En **POLONIA**, Pacon (1994) comprobó que entre el 50 y el 81% de los corzos albergaban adultos de nematodos gastrointestinales y que los géneros más frecuentes eran *Ostertagia* y *Nematodirus*.

En un estudio posterior realizado también en Polonia, Balicka-Ramisz *et al.* (2003) señalaron que el 96,5 % de los corzos estaban infectados por adultos de nematodos gastrointestinales. En abomaso identificaron *Spiculopteragia böhmi* y *Ostertagia leptospicularis* como especies más prevalentes y en menor proporción observaron *S. mathevossiani*, *S. asymmetrica*, *O. kolchida* y *Trichostrongylus axei*. En intestino delgado hallaron *Haemonchus contortus*, *Nematodirus spp.*, *Trichostrongylus spp.* y *Capillaria bovis*; en intestino grueso identificaron *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum venulosum* y *Trichuris ovis*, siendo esta última especie la única que encontraron en ciego.

Pilarczyk *et al.* (2005) observaron que todos los corzos abatidos en Polonia albergaban adultos de nematodos gastrointestinales, hallando las siguientes especies: *Spiculopteragia böhmi*, *Ostertagia kolchida*, *Ostertagia leptospicularis*, *Haemonchus contortus*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum venulosum*, *Capillaria bovis*, *Nematodirus spp.* y *Trichuris ovis*.

Vetýška (1980), en la **REPÚBLICA CHECA**, comprobó que ninguno de los corzos estudiados se hallaban libres de estos endoparásitos. Las especies de nematodos gastrointestinales encontradas fueron: *Haemonchus contortus*,

Ostertagia leptospicularis, *Ostertagia ostertagi*, *Spiculopteragia böhmi*, *Trichostrongylus capricola*, *Trichostrongylus axei*, *Nematodirus filicollis*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris capreoli* y *Trichuris globulosa*.

En **HOLANDA**, Jansen (1959) observó que los géneros más prevalentes eran *Trichostrongylus*, *Spiculopteragia* y *Ostertagia*. Los porcentajes más elevados correspondieron a *Trichostrongylus capricola* (60,9%), *Spiculopteragia spiculoptera* (45,53%), *Ostertagia leptospicularis* (21,76%) y *Trichostrongylus axei* (16,05%) mientras que hallón en menor proporción *Spiculopteragia mathevossiani* (4,11%), *Ostertagia ostertagi* (2,37%), *Haemonchus placei* (0,50%), *Haemonchus contortus* (0,13%), *Spiculopteragia asymmetrica* (0,13%), *Ostertagia lyrata* (0,10%), *Teladorsagia circumcincta* (0,03%) y *Apteragia quadrispiculata* (0,02%). En un estudio posterior realizado sobre 14 corzos del mismo país, Jansen (1975) observó que el género predominante fue *Spiculopteragia*, junto con *Ostertagia*. Las especies más frecuentes en esta ocasión fueron: *Spiculopteragia böhmi* (72%), *Ostertagia leptospicularis* (15%), y en menor proporción *Ostertagia kolchida* (5%), *Spiculopteragia mathevossiani* (4,9%), *Ostertagia ostertagi* (3%) y *Teladorsagia circumcincta* (0,1%). Finalmente, Jansen (1992) aunque en este estudio no citó prevalencias, señaló las siguientes especies: *Trichostrongylus capricola*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *Ostertagia leptospicularis*, *O. ostertagi*, *O. kolchida*, *O. lyrata*, *Spiculopteragia mathevossiani*, *S. böhmi*, *Nematodirus europaeus*, *Haemonchus contortus*, *Oesophagostomum venulosum*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Trichuris ovis* y *Capillaria bilobata*.

Borgsteede *et al.* (1990) examinaron 88 corzos de Holanda y determinaron la prevalencia de infección de las diferentes especies de nematodos gastrointestinales al tener en cuenta su localización en los distintos tramos del aparato digestivo. En abomaso hallaron *Spiculopteragia böhmi* (79%), *Ostertagia leptospicularis* (76%), *Ostertagia kolchida* (73%), *Trichostrongylus axei* (49%), *Spiculopteragia mathevossiani* (16%), *Ostertagia ostertagi* (16%), *Haemonchus contortus* (3%) y *Teladorsagia circumcincta* (1%). En intestino delgado observaron *Trichostrongylus capricola* (49%), *Nematodirus*

europaeus (31%) y *Bunostomum trigonocephalum* (2%). En ciego e intestino grueso hallaron *Trichuris ovis* (49%), *Oesophagostomum venulosum* (13%) y *Chabertia ovina* (2%).

En **ALEMANIA**, Rehbein *et al.* (2000) comprobaron que el 100% de los abomasos, el 68,8% de los intestinos delgados y el 89,1% de los intestinos gruesos de los corzos abatidos en el sur del país (Westfalia) albergaban adultos de nematodos gastrointestinales, siendo las especies más prevalentes *Ostertagia leptospicularis* (95,3%), *Spiculopteragia böhmi* (87,5%), *Ostertagia kolchida* (85,9%), *Trichuris globulosa* (67,2%), *Trichostrongylus capricola* (60,9%) y *Oesophagostomum venulosum* (50%).

En corzos abatidos en **ITALIA**, Rossi *et al.* (1997) señalaron que las especies más frecuentes en el abomaso eran *Ostertagia leptospicularis* y *Spiculopteragia spiculoptera* y que en intestino delgado predominaba *Nematodirus europaeus*.

Togni *et al.* (2004) en corzos abatidos en el Norte de Italia, observaron que las especies más prevalentes eran *Ostertagia leptospicularis* (95%; $\bar{x} = 344$), *Spiculopteragia spiculoptera* (93%; $\bar{x} = 234$), *Ostertagia kolchida* (71,4%; $\bar{x} = 72$), *Spiculopteragia mathevossiani* (28,6%; $\bar{x} = 7,5$) y hallaron *Marshallagia marshalli* y *Ostertagia lyrata* en un corzo.

En **FRANCIA**, Ferté *et al.* (1999) señalaron que las especies más frecuentes eran *Ashworthius sidemi*, *Ashworthius gagarin*, *Spiculopteragia spiculoptera*, *Ostertagia leptospicularis* y *Haemonchus contortus*.

En **ESPAÑA**, Navarrete *et al.* (1990) observaron que las especies más prevalentes en corzos de la **provincia de Córdoba** eran *Teladorsagia circumcincta* y *Ostertagia ostertagi* y con menor frecuencia hallaron *Spiculopteragia asymmetrica* y *Nematodirus filicollis*.

En corzos abatidos en la **provincia de Cáceres**, Reina *et al.* (1992) señalaron prevalencias del 33,3% para *Ostertagia ostertagi* y del 16,7% para *Teladorsagia circumcincta*, *Spiculopteragia asymmetrica* y *Nematodirus filicollis*.

En la **provincia de Salamanca**, Ramajo *et al.* (2007) hallaron *Teladorsagia davtiani* (63%; $\bar{x} = 850$), *Trichuris ovis* (33%; $\bar{x} = 50$), *Nematodirus filicollis* (13%; $\bar{x} = 187$) y *Trichostrongylus axei* (11%; $\bar{x} = 200$).

En las **provincias de Palencia, León y Lugo**, Díez-Baños *et al.* (1990, 1996) comprobaron que todos los corzos estudiados albergaban adultos de nematodos gastrointestinales. En abomaso, los géneros más prevalentes eran *Ostertagia*, y en menor proporción *Spiculopteragia*, *Trichostrongylus* y *Haemonchus*; en intestino delgado predominó *Nematodirus* y con menos frecuencia hallaron *Trichostrongylus* y *Cooperia*; en ciego predominó *Capillaria* y en menor proporción hallaron *Oesophagostomum* y *Trichuris*.

En **Galicia**, Díez-Baños *et al.* (1995), comprobaron que todos los corzos examinados estaban parasitados por nematodos gastrointestinales, identificando *Ostertagia leptospicularis*, *O. kolchida*, *Teladorsagia circumcincta*, *Spiculopteragia spiculoptera*, *S. mathevossiani*, *Trichostrongylus axei*, *Nematodirus europaeus*, *Capillaria*, *Cooperia*, *Trichuris* y *Oesophagostomum*.

En corzos abatidos en diferentes TECORES gallegos, Pato *et al.* (2009 a, c) observaron que todos los animales albergaban adultos de nematodos gastrointestinales, siendo el abomaso el órgano más parasitado (100%), seguido del intestino delgado (81%), del intestino grueso (59%) y del ciego (56%). Además, apreciaron que la mayoría de las especies identificadas se localizaban en abomaso e intestino delgado.

Posteriormente, en otro estudio realizado sobre 64 corzos abatidos en diferentes localidades gallegas, comprobamos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) que el 100% de los animales albergaban adultos de nematodos

gastrointestinales y que la prevalencia de infección variaba en los diferentes tramos del tracto gastrointestinal. Todos los abomasos y la mayoría de los intestinos delgados albergaban adultos, pero los porcentajes de parasitación fueron significativamente inferiores en intestino grueso y ciego. La mayoría de las especies se localizaron en abomaso (11) o en intestino delgado (10) y, a pesar de que la prevalencia e intensidad de infección fueron diferentes, en ambos tramos se identificaron *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia kolchida*, *Spiculoptera spiculoptera*, *Spiculoptera mathevossiani*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus capricola* y *Nematodirus filicollis*. En intestino grueso y ciego se hallaron menor número de especies, predominando *Trichuris capreoli* y *Oesophagostomum venulosum*, respectivamente. En abomaso predominaron las infecciones mixtas con cuatro especies, mientras que en intestino delgado, intestino grueso y ciego, fueron más frecuentes las infecciones mono-específicas.

Además, al relacionar la prevalencia e intensidad de infección de los nematodos gastrointestinales al tener en cuenta su localización en el aparato digestivo, comprobamos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) que ambos parámetros eran más elevados en abomaso (100%; $\bar{x} = 1.189 \pm 717$) e intestino delgado (93%; $\bar{x} = 122 \pm 170$) y más bajos en intestino grueso (62,5%; $\bar{x} = 4 \pm 3$) y ciego (61%; $\bar{x} = 4 \pm 3$); siendo la intensidad de infección del abomaso significativamente superior a la del resto de tramos intestinales. En abomaso se identificaron *Ostertagia* (97%; $\bar{x} = 503 \pm 367$), *Spiculoptera* (97%; $\bar{x} = 638 \pm 438$), *Trichostrongylus* (33%; $\bar{x} = 191 \pm 366$), *Nematodirus* (5%; $\bar{x} = 414 \pm 668$) y *Haemonchus* (2%; $\bar{x} = 6 \pm 0$); en intestino delgado se hallaron todos los anteriores excepto *Haemonchus*; aunque la prevalencia e intensidad de infección fue menor para todos (*Ostertagia*: 26%, $\bar{x} = 35 \pm 48$; *Spiculoptera*: 28%, $\bar{x} = 50 \pm 96$; *Trichostrongylus* 12%, $\bar{x} = 81 \pm 158$) excepto para *Nematodirus* (75%, $\bar{x} = 106 \pm 121$). En ciego e intestino grueso se identificaron *Oesophagostomum* (47%, $\bar{x} = 3 \pm 2$; 34%, $\bar{x} = 3 \pm 2$, respectivamente) y *Trichuris* (36%, $\bar{x} = 2 \pm 2$; 50%, $\bar{x} = 2 \pm 2$, respectivamente); además en intestino grueso también se halló *Chabertia* (3%, $\bar{x} = 3 \pm 1$).

Respecto a la influencia de la zona de procedencia de los corzos (Costa, Centro y Montaña) sobre la prevalencia de infección, se observó (Pato, 2010) que la prevalencia de *Ostertagia* y *Spiculoptera* era muy alta en los corzos abatidos en las 3 zonas de estudio, mientras que la de *Trichostrongylus*, *Trichuris* y *Chabertia* era mayor en la Costa y la de *Nematodirus* y *Oesophagostomum* en la Montaña; no obstante, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

Al estudiar la posible relación entre la edad de los corzos y la prevalencia e intensidad de parasitación, observamos (Pato, 2010; Díez-Baños, *et al.*, 2010) que los animales adultos ($\bar{x} = 1.322$) albergaban mayor carga parasitaria que los más jóvenes ($\bar{x} = 1.100$), aunque estas diferencias no fueron significativas.

En **muestras de heces** de 185 corzos abatidos en dos zonas diferentes de Galicia, una montañosa y otra más llana y próxima a zonas de cultivos agrícolas, Vázquez *et al.* (2009 b), comprobaron que el 66 % de los animales eliminaban huevos de nematodos gastrointestinales, identificándose en mayor proporción los de Tricostrongílidos (65%) y con menor frecuencia los de *Trichuris spp.* (5%) y *Nematodirus spp.* (3%); comprobándose que existía un riesgo significativamente mayor de infección por nematodos gastrointestinales en los animales de las zonas más cercanas a las tierras agrícolas. Asimismo, Morrondo *et al.* (2009) analizaron 379 muestras de heces de corzos, abatidos en Galicia entre Mayo del 2007 y Octubre del 2009, observando que el 66,3% de los animales eliminaban cifras moderadas de huevos de nematodos gastrointestinales ($\bar{x} = 130$ hpg).

En relación con la edad de los animales, Vázquez *et al.* (2009 c) observaron que en Galicia, la prevalencia y cifras medias de huevos de nematodos gastrointestinales que eliminaban los corzos jóvenes (72%; $\bar{x} = 160$ hpg) eran superiores a las excretadas por los adultos (67%; $\bar{x} = 137$ hpg).

Posteriormente y con el fin de estudiar la evolución de las infecciones producidas por endoparásitos en corzos abatidos en Galicia en los últimos años, Morrondo *et al.* (2009) y Vázquez *et al.* (2010 a), recogieron un total de 128 y 367 muestras de heces en las temporadas de caza 1993-95 y 2007-09, respectivamente; observando que en el primer periodo de estudio la prevalencia de infección (27%) era inferior a la hallada en el segundo periodo (67%) y que, en ambas décadas, se identificaron en mayor proporción huevos de estrombilidos (67% vs 26%) y en menor porcentaje huevos de *Nematodirus* (7% vs 3%), *Trichuris* (3% vs 4%) y *Capillaria* (2% vs 5%); concluyendo que el incremento de eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales de los corzos en los últimos doce años, podría estar relacionado con el aumento de la densidad en las poblaciones de este ungulado en Galicia.

En un estudio realizado por Vázquez *et al.* (2009 a) con objeto de conocer si la vegetación que ingerían los corzos en las diferentes estaciones del año influía sobre la prevalencia y eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales; comprobaron que, en primavera cuando los animales ingieren mayor cantidad de plantas herbáceas se observaba menor prevalencia y cifras medias de eliminación más bajas (57%; $\bar{x} = 102$ hpg), mientras que en otoño, cuando los corzos consumían más plantas arbustivas y por tanto mayor cantidad de taninos, era cuando había mayor porcentaje de corzos (66%) infectados por nematodos gastrointestinales que eliminaban mayor número de huevos (132 hpg).

2.3.- Agentes infecciosos

2.3.1.- Tuberculosis de los rumiantes

2.3.1.1.- Etiología

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que afecta al hombre y a los animales producida por las bacterias del Orden Actinomicetales, Familia Mycobacteriaceae y Género *Mycobacterium* cuyas principales especies, desde el punto de vista patogénico, son:

- *M. tuberculosis*
 - *M. africanum* (variedades I y II)
 - *M. microti*: afecta a roedores.
 - ***M. bovis*: afecta principalmente a rumiantes domésticos y silvestres** y también al hombre.
 - *M. avium*: afecta principalmente a aves y a suidos.
- } Afectan al hombre.

Las cuatro primeras especies integran el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (Complejo CMTB).

La infección por *M. bovis* se caracteriza normalmente por la formación de granulomas nodulares conocidos como tubérculos. Se trata de un bacilo ácido-alcohol resistente (BAAR) intracelular facultativo, Gram positivo y aerobio.

Las micobacterias no presentan esporas, sin embargo son más resistentes al calor, cambios de pH y desinfección que otras bacterias no formadoras de esporas.

Una de las principales características por las que destacan es la elevada cantidad de lípidos que presentan en su pared lo que les confiere un gran

interés desde el punto de vista taxonómico (BAAR), epidemiológico (gran resistencia a la desecación y una elevada tasa de supervivencia en el medio ambiente) y patológico (capacidad de sobrevivir y multiplicarse en el interior de los macrófagos).

La primera referencia sobre la tuberculosis animal data del año 40, cuando Columela describe la tuberculosis pulmonar de los vacunos pero no sería hasta el siglo XIX cuando se relacionó con la "tisis" humana. En 1797, Klenke vinculó el consumo de leche de vaca y la aparición de las escrófulas (tuberculosis humana). Posteriormente Gurlt (1831), Hering (1849) y Fuchs (1859) considerarían la tuberculosis pulmonar del ganado vacuno esencialmente igual a la tuberculosis pulmonar humana.

Poco más tarde, en 1868, Villemin confirmó la tuberculosis como una enfermedad transmisible entre hombre-animal y viceversa, consiguiendo reproducir la enfermedad en conejos y cobayas por inoculación de material patógeno proveniente tanto de hombres como de animales.

Finalmente en 1882 Koch descubre el bacilo tuberculoso demostrando la etiología bacteriana de la enfermedad. En 1890 desarrollaría la prueba de diagnóstico de la tuberculina, tras la fallida pretensión de utilizarla como vacuna. En 1889, tuvo lugar en Finlandia la primera campaña de erradicación de la tuberculosis bovina.

La tuberculosis bovina en animales silvestres se describió por primera vez en 1929 en Sudáfrica en el kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) y en el duiker (*Sylvicapra grimm*). La primera notificación de la infección en corzos data del año 1938 en Alemania (Schmidt, 1938).

Mycobacterium bovis, está emergiendo como uno de los patógenos más importantes de los mamíferos silvestres (Morris *et al.*, 1994). El control de la tuberculosis en ganado doméstico, basado en una eliminación de animales infectados y vigilancia intensiva ha logrado la erradicación de la enfermedad en casi todos los animales domésticos en el mundo (Morris *et al.*, 1994). Sin

embargo, la tuberculosis ha aumentado desde las dos últimas décadas, y las poblaciones de animales silvestres, anteriormente afectadas esporádicamente por la tuberculosis, ahora son reservorios (Morris *et al.*, 1994; Perumaalla *et al.*, 1996).

2.3.1.2.- Epidemiología

La tuberculosis es una enfermedad de distribución mundial, aunque su prevalencia ha descendido muchísimo en los países desarrollados en la segunda mitad de este siglo.

- *Hospedadores:*

Aunque se considera que el ganado vacuno es el verdadero hospedador de *M. bovis*, se ha descrito la enfermedad en muchos animales domésticos y no domésticos e incluso en el hombre (Acha y Szyfres, 1997). El microorganismo se ha aislado de búfalos, bisontes, ovejas, cabras, équidos, camellos, palomas, cerdos, jabalíes, corzos, ciervos, antílopes, perros, gatos, visones, tejones, hurones, ratas, primates y un largo etc. (O'Reilly y Daborn, 1995).

En el ambiente ganadero los hospedadores naturales de *M. bovis* son los bovinos; actuando la cabra como hospedador secundario, e incluso primario en zonas semiáridas. Estas especies resultan así mismo las más propensas al desarrollo de la enfermedad. El resto de los mamíferos intervienen como hospedadores accidentales.

En el medio natural los bovinos, sobre todo, y los cérvidos son los principales hospedadores de dicha enfermedad. En Europa la presencia de la infección en corzos solo se ha notificado esporádicamente (Alemania, Inglaterra y Suiza) y en España no fue descrita la enfermedad en este rumiante hasta hace poco (Balseiro *et al.*, 2009).

Además, en diversos estudios se ha observado que existen ciertas especies que pueden tener un papel epidemiológico importante en el mantenimiento de la tuberculosis en la naturaleza. Casos del mismo son el tejón en el Reino Unido (Donelli *et al.*, 2005) y la zarigüeya en Nueva Zelanda o del jabalí o el ciervo en nuestro país (Serraino *et al.*, 1999; Gortázar *et al.*, 2003). Estas circunstancias pueden provocar que una enfermedad como la tuberculosis, prácticamente erradicada en los animales domésticos, siga presentando brotes esporádicos.

- *Importancia económica:*

La tuberculosis bovina origina perjuicios económicos al ganadero y reduce la eficiencia productiva de sus animales. Aunque no existen estudios sobre el corzo podemos considerar que al igual que en domésticos produciría:

- Disminución de la fertilidad.
- Alteraciones en el peso de los animales. Lento aumento o disminución gradual del mismo (caquexia).
- Aumento de la susceptibilidad a otras enfermedades.
- Aumento del número de abortos.

Además, en el caso de las poblaciones de animales silvestres la presencia de la infección en las mismas supone un reto para la supervivencia de algunas especies que puedan hallarse en peligro.

- *Prevalencia en ganado doméstico de Galicia:*

En el ganado vacuno de nuestra comunidad la prevalencia de infección por tuberculosis es muy baja, alcanzando únicamente el 0,22% (RASVE, 2010). En otras Comunidades como Aragón, Asturias o Cantabria las prevalencias son similares a la gallega. Siendo algo más elevadas en otras regiones como Castilla La Mancha (10,2%), Andalucía (8,9%) y Madrid (5,5%).

2.3.1.3.- Manifestaciones clínicas

En general, se caracteriza por la formación de granulomas nodulares conocidos como tubérculos. Aunque se suele definir como una enfermedad crónica debilitante, la tuberculosis puede presentar en ocasiones un curso agudo, rápido y progresivo.

Cualquier tejido del cuerpo puede resultar afectado, pero las lesiones se observan con más frecuencia en los ganglios linfáticos (sobre todo de la cabeza y tórax), pulmones, intestinos, hígado, bazo, pleura y peritoneo.

En países con programas de erradicación de la tuberculosis, raramente se observa evidencia clínica de la misma en el ganado, ya que la prueba intradérmica de la tuberculina posibilita el diagnóstico y la eliminación de los animales infectados antes de la aparición los síntomas. Sin embargo, antes de las campañas nacionales de erradicación de la tuberculosis, se observaban con frecuencia los síntomas asociados con la tuberculosis (Cousins, 2001).

Gran parte del tiempo durante el cual el animal permanece infectado transcurre sin que presente alteraciones clínicas evidenciables mediante signos externos de enfermedad; el periodo de incubación es muy prolongado (varios meses e incluso años). El período clínico, excepción hecha de los casos en que la tuberculosis cursa bajo la forma de generalización precoz, tiende a ser crónico aunque más corto que el de incubación. La sintomatología resulta poco característica ya que depende de la intensidad de las lesiones así como de la distribución de las mismas en el organismo; junto a la debilidad y la caquexia, predominan los signos de afección respiratoria (disnea, tos y neumonía) y las adenopatías subcutáneas.

En los cérvidos la enfermedad puede ser subaguda o crónica, con una velocidad de progresión variable. Algunos animales pueden afectarse gravemente en pocos meses, mientras que otros pueden tardar años en mostrar síntomas clínicos relacionados con las lesiones (Clifton-Hadley y Wilesmith, 1991).

Las lesiones que se producen pueden parecerse a las del ganado vacuno (granuloma proliferativo, caseificación, granulación y calcificación con la edad) y pueden tomar la forma de abscesos de paredes finas con escasa calcificación y que contienen material purulento.

En estos animales cuando se observan lesiones con abscesos de etiología desconocida se debe considerar la posibilidad de tuberculosis. Los ganglios linfáticos afectados son, por lo general, los de la cabeza y el tórax. Pero también pueden estar afectados los ganglios linfáticos mesentéricos y encontrarse grandes abscesos en este lugar. La distribución de las lesiones depende de la dosis infectiva, de la ruta de infección y del período de incubación.

2.3.1.4.- Diagnóstico

1) ***Clínico-lesional:***

En los animales vivos el diagnóstico directo suele resultar infructuoso pues en la mayoría de los casos la tuberculosis cursa con lesiones granulomatosas encapsuladas no abiertas al exterior. Únicamente cuando la evolución es más grave o en la fase de generalización de la infección la sintomatología clínica es más evidente.

En los cadáveres de animales sospechosos de tuberculosis resulta más fácil observar las lesiones. Estas se ven con más frecuencia en los ganglios linfáticos bronquiales, mediastínicos, craneales y portales, que pueden ser el único tejido infectado. Además se suelen ver afectados los pulmones, el hígado, el bazo y las superficies de las cavidades del cuerpo.

Un granuloma tuberculoso suele presentar un aspecto amarillento y consistencia caseosa, caseo-calcárea o calcificada. Ocasionalmente pueden

ser purulentos. Normalmente, el centro caseoso es seco, firme, y está cubierto con una cápsula fibrosa conjuntiva de grosor variable. Los tejidos fijados no se extraen intactos con facilidad, como ocurre con algunos granulomas no tuberculosos. El tamaño de las lesiones varía, desde tan pequeñas que pueden pasar desapercibidas a simple vista, hasta ocupar gran parte de un órgano.

2) **Diagnóstico de Laboratorio:**

a. DIRECTO

a.1. *Microscópico*

La presencia de bacterias se puede diagnosticar microscópicamente en frotis directos de muestras clínicas y en materiales tisulares preparados. Además mediante histopatología se pueden obtener muestras que posteriormente se tiñen con la técnica Ziehl-Neelsen. La valoración de estas lesiones se realiza posteriormente mediante observación al microscopio.

a.2. *Cultivo*

Se puede llevar a cabo mediante diferentes métodos de descontaminación, entre los que destacan el que emplea ácido oxálico e hidróxido sódico. Los medios de cultivo han de contener piruvato, glicerol o ambos como los de Lowestein-Jensen, Coletsos, Stonebrinks o Middlebrook.

Se espera que las colonias de *Mycobacterium bovis* crezcan a lo largo de 8 semanas de incubación. Los microorganismos crecen lentamente a 37°C y las colonias son lisas y de color pardusco.

a.3. *Cultivo radiométrico (BACTEC®)*

En algunos laboratorios veterinarios se utilizan rutinariamente sistemas de cultivos líquidos como *BACTEC®* (BD Diagnostics). El crecimiento se

determina por métodos radiométricos o fluorométricos. Están constituidos por estufas de cultivo continuo, con sensores capaces de detectar el CO₂ producido por el metabolismo de las micobacterias presentes en la muestra. Normalmente están conectados a una computadora que detecta la señal positiva, realiza los registros y el análisis de la información.

a.4. PCR (Polimerase Chain Reaction)

Basada en la detección de determinadas secuencias de ADN de la micobacteria en muestras de secreciones o tejidos.

b. INDIRECTO

b.1. Serológico

La prueba ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) parece la mejor elección entre las pruebas serológicas y puede ser un complemento, más que una alternativa, a las basadas en la inmunidad celular. Es útil en ganado anérgico y en cérvidos. Una ventaja es su simplicidad, pero su especificidad y sensibilidad son limitadas en el ganado, debido principalmente al desarrollo tardío e irregular de la respuesta inmune humoral durante la enfermedad. Sin embargo, la respuesta de anticuerpos en cérvidos parece desarrollarse antes y de modo más previsible y se ha descrito que la sensibilidad de un ELISA de competición puede ser de hasta el 85% (Griffen *et al.*, 1994). En Nueva Zelanda se ha aprobado como una prueba de apoyo paralelo en granjas de ciervos y se realiza 13-33 días después de la prueba cutánea en el cuello (Griffen *et al.*, 1993).

b.2. Producción de gamma-interferón

Esta prueba se basa en la liberación de gamma-interferón por linfocitos sensibilizados durante un período de incubación de 16-24 horas con antígeno específico, un extracto de tuberculina denominado derivado de proteína purificada (PPD). La cuantificación del mismo se realiza por un ELISA

sándwich que utiliza dos anticuerpos monoclonales contra el gamma-interferón bovino. Se debe realizar entre las 24 y 30 horas posteriores a la recogida de la muestra.

Comparada con la prueba cutánea, ésta posee una sensibilidad elevada pero es menos específica. Para animales de manejo difícil o peligroso presenta la ventaja sobre la prueba cutánea de que sólo necesitan ser capturados una vez.

b.3. Intradermoreacción

El método estándar para la detección de la tuberculosis bovina es la prueba de la tuberculina, que comprende la inyección intradérmica de tuberculina PPD bovina y la consiguiente observación y detección de engrosamiento de la piel (hipersensibilidad retardada) en el lugar de inoculación transcurridas 72 horas. La prueba puede llevarse a cabo empleando sólo tuberculina bovina o, en el caso de pruebas comparativas, utilizando además tuberculina aviar. Esta última prueba se utiliza para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y aquellos sensibilizados a la tuberculina bovina por exposición a otras micobacterias. La sensibilización se debe a la gran reactividad cruzada existente entre especies de micobacterias y géneros relacionados.

Normalmente el lugar de elección es en el medio del cuello, pero también se puede realizar en el pliegue caudal de la cola. La piel del cuello es más sensible a la tuberculina que la de la cola. En este último caso para compensar esta diferencia se pueden utilizar mayores dosis de tuberculina.

b.4. Prueba de proliferación de linfocitos

Este tipo de ensayo compara la reactividad *in vitro* de los linfocitos de la sangre periférica a la tuberculina PPD (PPD-B) y a una tuberculina PPD de *Mycobacterium avium* (PPD-A). Se puede realizar con sangre entera o con linfocitos purificados de muestras de sangre periférica. Estas pruebas tratan de

aumentar la especificidad eliminando la respuesta de los linfocitos a antígenos inespecíficos o con reacción cruzada asociados a especies de micobacterias no patógenas a las que el animal puede haber estado expuesto.

En general, los resultados se analizan como el valor obtenido en respuesta a PPD-B menos el valor obtenido en respuesta a PPD-A. El resultado debe estar por encima de un valor de corte que se puede alterar para aumentar la especificidad o sensibilidad del diagnóstico.

El ensayo tiene valor científico, pero no se emplea para diagnóstico rutinario porque la prueba es lenta y su ejecución en el laboratorio es complicada (requiere tiempos de incubación largos y el uso de nucleótidos radioactivos). Sin embargo, la prueba puede ser útil para animales silvestres y animales de zoológicos.

En ciervos se ha descrito una prueba con ensayos de transformación de linfocitos y ELISA que tiene una elevada sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de infecciones por *M. bovis* (Griffen *et al.*, 1993). La prueba es relativamente cara y todavía no se ha sometido a comparaciones entre distintos laboratorios.

2.3.1.5.- Prevalencia de *Mycobacterium bovis* en el corzo

En este apartado, haremos referencia a los principales trabajos realizados sobre la prevalencia de infección por tuberculosis en corzos abatidos en Europa.

En Europa, la presencia de esta enfermedad en el corzo se ha notificado de manera esporádica en **ALEMANIA** (Schmidt, 1938), **SUIZA** (Bouvier, 1963) o **INGLATERRA** (Gunning, 1985) a pesar de ser en la actualidad un animal ampliamente distribuido en el continente.

En un estudio sobre la prevalencia de la enfermedad en un gran número de mamíferos silvestres en el sur de **INGLATERRA**, Delahay *et al.* (2007) al realizar aislamiento y cultivo de tuberculosis encontraron un porcentaje de infección del 1% en 885 corzos.

En una investigación realizada en **FRANCIA** por Zanella *et al.* (2008), mediante aislamiento, cultivo y genotipado se halló el mismo porcentaje en los 92 corzos de un bosque donde previamente se habían señalado elevadas prevalencias de tuberculosis en otras especies silvestres como el ciervo rojo y el jabalí.

Recientemente Balseiro *et al.* (2009) confirmaron los primeros casos de corzos afectados por *Mycobacterium bovis* en **ESPAÑA** e **ITALIA**. Concretamente en las regiones de Valdés (Asturias) y Ollomont. Aunque en estudios anteriores realizados entre los años 2002 y 2007 sobre 227 corzos pertenecientes a los mismos países no se observaron lesiones compatibles con tuberculosis.

Para justificar las ausencias o bajas prevalencias de tuberculosis en el corzo los autores apuntan a diferentes posibles causas.

El control exhaustivo de esta enfermedad al que se ha sometido al **ganado doméstico**, basado en una eliminación de animales infectados y vigilancia intensa, ha posibilitado la erradicación de la enfermedad en casi todos los animales domésticos en el mundo (Morris *et al.*, 1994) y también en España. A pesar de ello, la tuberculosis ha aumentado algo en las dos últimas décadas, y determinadas poblaciones de animales silvestres, anteriormente afectadas esporádicamente por la tuberculosis, ahora son reservorios (Morris *et al.* 1994; Perumaalla *et al.* 1996). Aunque el corzo ha aumentado mucho su distribución y densidad en la mayoría de las regiones europeas (Acevedo *et al.*, 2005), algo que también es patente en nuestra Comunidad, y que implicaría un mayor contacto con el ganado doméstico que podría favorecer el contagio de diferentes enfermedades (Gortázar *et al.*, 2007); la posibilidad de adquirir la

infección se vería drásticamente reducida al tratarse de animales con un estatus sanitario óptimo.

Otros autores sostienen que el corzo posee una **menor susceptibilidad** a las infecciones que otros cérvidos (Zanella *et al.*, 2008). Se sabe que estos animales son menos gregarios que otras especies de cérvidos, lo que podría reducir el potencial mantenimiento de las enfermedades en la naturaleza (Delahay *et al.*, 2007). Además, el corzo es un animal muy selectivo en cuanto a alimentación (Mussa *et al.*, 2003), por lo que las oportunidades para contraer la infección a través de contaminantes ambientales es probablemente inferior a la de otros rumiantes silvestres. Este cérvido por tanto tendría menos opciones de adquirir la infección al no existir contacto con las micobacterias. Así, en un trabajo realizado en Francia por Zanella *et al.* (2008) se observó que los ciervos de ese área de estudio presentaron una prevalencia de tuberculosis muy elevada en comparación con la de los corzos que apenas supuso el 1%. Resultados muy parecidos a los obtenidos previamente en Inglaterra por Delahay *et al.* (2007), que también detectaron mayores prevalencias en otros rumiantes silvestres como los gamos o muntjacs. Los autores sugieren que el corzo es una especie que no juega un papel importante en la transmisión de la tuberculosis y consideran a este animal incluso un huésped secundario de la infección.

De todas maneras hay que tener en cuenta que la tuberculosis es un proceso que se ha estudiado poco en la fauna silvestre de nuestro país y el corzo no es una excepción. Si bien estas bajas o nulas prevalencias y las **notificaciones esporádicas** de casos en esta especie (Schmidt, 1938; Bouvier, 1963; Gunning, 1985 y Balseiro *et al.*, 2009) podrían hacernos suponer la idea de que el corzo no representa un reservorio de tuberculosis importante para otras especies de vida silvestre ni para el ganado doméstico.

2.3.2.- Paratuberculosis de los rumiantes

2.3.2.1.- Etiología

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa crónica producida por la bacteria del Orden Actinomycetales, Familia Mycobacteriaceae: ***Mycobacterium avium paratuberculosis*** (MAP). Se trata de un bacilo ácido-alcohol resistente intracelular facultativo, Gram positivo y aerobio.

El bacilo fue observado por primera vez por Johne y Frothinghan en 1895 en muestras de tejido intestinal con inflamación procedentes de bovinos que habían dejado de ganar peso y producir leche. El proceso causado por estos bacilos se conoce desde entonces como enfermedad de Johne o paratuberculosis.

En 1920, el Manual Bergey denominó al agente como *Mycobacterium paratuberculosis*, pero debido a que su genoma es muy similar al de *Mycobacterium avium*, recientemente se ha considerado como una subespecie de éste (Thorel *et al.*, 1990). Actualmente se reconocen 3 estirpes del microorganismo, 2 aisladas en ovino y 1 en vacuno.

Mycobacterium avium paratuberculosis se caracteriza por su crecimiento en grupos, siendo un parásito obligado debido a su micobactina-dependencia, que le impide multiplicarse fuera de los tejidos animales. Tiende a acumularse en el interior de los macrófagos. Puede mantenerse durante largos períodos de tiempo fuera del hospedador debido a su gran resistencia, ya que todas las especies de *Mycobacterium* comparten una característica pared celular hidrofóbica, cerosa, rica en ácidos micólicos y de mayor grosor que la de muchas otras bacterias. En heces puede llegar a permanecer más de un año y en orina hasta siete días, resistiendo la pasteurización y la mayoría de los desinfectantes y antibióticos. En Londres se realizó uno de los estudios más completos para demostrar la resistencia de MAP en heces de ganado vacuno expuestas a distintas condiciones ambientales, tales como lluvia, congelación y

cambios de temperatura y luz solar (Lovell *et al.*, 1944). En este trabajo consiguieron aislar el microorganismo tras realizar cultivos regulares y observaron que sobrevivía hasta 9 meses. Por el contrario, es sensible a fenoles y cresoles y se inactiva con agentes físicos (radiaciones solares, sequedad, etc.) o químicos (soluciones acuosas con detergentes, hipoclorito sódico, formol al 5%, cresoles al 3%, fenol al 2,5%, hipoclorito cálcico al 2%, suelos de pH alcalino, etc.).

La paratuberculosis se considera actualmente como uno de los principales procesos patológicos de los rumiantes, constituyendo una de las enfermedades cuya importancia ha aumentado de forma notable en las últimas décadas, al afectar tanto a ganado extensivo como al de alta producción. Por todo ello, se trata de una enfermedad objeto de comunicación anual en España. Cabe destacar, asimismo, sus posibles implicaciones zoonóticas, ya que cada vez existen más evidencias de la relación entre esta patología en rumiantes y la enfermedad de Crohn en humanos (Acheson, 2001).

2.3.2.2.- Epidemiología

La paratuberculosis tiene un período de incubación muy prolongado, de meses a años, aunque excepcionalmente se pueden encontrar lesiones a los pocos días de la infección. La sensibilidad de infección disminuye con la edad, siendo los adultos menos susceptibles que los jóvenes, aunque no por ello exentos de contagio. Su morbilidad es baja pero su mortalidad es alta.

- Hospedadores:

Aunque tradicionalmente se ha considerado como una enfermedad de rumiantes domésticos, en las últimas décadas se han realizado importantes investigaciones donde se ha conseguido aislar la bacteria en diferentes especies animales, tanto domésticas como silvestres. Así, se ha descrito en vacas, ovejas, cabras, caballos, cerdos, ciervos, corzos y alpacas, y más recientemente en conejos, armiños, zorros y comadrejas (Katic, 1961; Beard *et*

al., 1999; Greig *et al.*, 1999; Álvarez *et al.*, 2005); también se ha identificado en el ser humano (Patterson *et al.*, 1972; Chiodini, 1983; Cirone *et al.*, 2007).

Sin embargo, diversos estudios sugieren que únicamente los animales domésticos, especialmente vacuno lechero y pequeños rumiantes, pueden mostrar sintomatología clínica, mientras que en animales silvestres en libertad es muy difícil observar la enfermedad (De Lisle *et al.*, 1993; Pavlik *et al.*, 2000). En países como Nueva Zelanda o Escocia observaron que la paratuberculosis era un proceso frecuente en ciervos mantenidos en cautividad como consecuencia del empleo de pastos aprovechados anteriormente por rumiantes domésticos infectados (De Lisle *et al.*, 1993).

- Importancia económica:

Las pérdidas causadas por la enfermedad son cuantiosas, teniendo mayor repercusión las experimentadas por los portadores subclínicos, puesto que su producción se reduce considerablemente.

En ganado vacuno, la paratuberculosis provoca pérdidas económicas directas, como la muerte del ganado. También causa pérdidas indirectas, entre las que destacamos:

- Disminución en la producción láctea
- Incremento en gastos veterinarios y de medicamentos.
- Incremento en la susceptibilidad a otras enfermedades.
- Disminución en la ganancia de peso de los animales.
- Reducción de la vida productiva de los animales.
- Incremento en los costes de reposición.

- Prevalencia en ganado doméstico de Galicia:

En el ganado vacuno de nuestra comunidad la prevalencia de infección por paratuberculosis es reducida, alcanzando el 3,02% en vacuno lechero, el

1,03% en vacuno de carne y el 2,83% en animales de granjas con ganado de ambos tipos (Diéguez *et al.*, 2007). Los valores señalados en ganado ovino y caprino son, según datos aproximados de la Asociación de defensa sanitaria ACIVO, un 40% de prevalencia en explotaciones y en el caso de los animales el 12% (Viña, comunicación personal).

En el resto del país tan solo en zonas concretas como el País Vasco (8,3%; Vázquez *et al.*, 2009), Extremadura (1,23%; García *et al.*, 2008) o Asturias (1,2%; Balseiro *et al.*, 2004), han sido realizados estudios de seroprevalencia de paratuberculosis en ganado vacuno.

2.3.2.3.- Manifestaciones clínicas

Sólo un pequeño porcentaje de los animales infectados desarrolla sintomatología clínica. En general, los enfermos adelgazan de manera continua aunque se alimenten bien, manteniendo una temperatura corporal normal. A causa de la naturaleza progresiva, pero lenta, de la enfermedad, los signos clínicos no son visibles hasta que los animales son adultos.

El ganado vacuno afectado sufre una progresiva pérdida de condición corporal, siendo la diarrea el signo más característico. En un estadio temprano de la enfermedad la diarrea es intermitente, pero a medida que avanza el proceso los períodos de normalidad son cada vez más cortos, dando lugar, finalmente, a una diarrea incoercible que puede ocasionar la muerte por adelgazamiento progresivo y deshidratación (Gilmour *et al.*, 1954). También suele ser característico el edema submandibular. Por el contrario, la diarrea no es tan común en los pequeños rumiantes, y a menudo mantienen un buen apetito hasta las fases terminales de la enfermedad (Scott *et al.*, 1995). Por ello, el diagnóstico en base a los signos clínicos es sumamente complicado. En estos animales pueden desarrollar edema submandibular y puede observarse deterioro de la lana.

En los animales silvestres los síntomas más comunes son diarreas de intensidad variable, progresiva pérdida de peso y deterioro del pelo con áreas de alopecia. Nebbia *et al.* (2000) observaron, en ejemplares jóvenes de ciervo rojo, un repentino inicio del proceso con rápida pérdida de peso y condición corporal y presencia de diarreas frecuentes, mientras que los adultos raramente desarrollaron signos clínicos. Sin embargo, otros estudios afirman que los adultos pueden ser seropositivos y mostrar lesiones patológicas en el examen *postmortem* (Mackintosh *et al.*, 2004).

2.3.2.4.- Diagnóstico

Según el Manual de diagnóstico de la Organización Mundial de Epizootías (Johnes's Disease Center, 2004) las sospechas de la enfermedad pueden basarse en los signos clínicos, aunque es necesario confirmar este diagnóstico presuntivo por medio de pruebas laboratoriales. No obstante, el principal escollo en el control de la paratuberculosis consiste en detectar a los animales infectados que no muestran sintomatología, dado el curso lento de la misma y la cantidad de animales que actúan como portadores silentes.

1) **Clínico-lesional:**

La sintomatología que cursa con pérdida de condición corporal progresiva y diarrea crónica puede inducir a sospechar de este proceso. No existe una relación directa entre la gravedad de los signos clínicos y la extensión de las lesiones en el intestino. El intestino, desde el duodeno al recto, debe abrirse para exponer la mucosa, que se examina minuciosamente con el objeto de encontrar engrosamientos más o menos característicos, sobretodo a nivel del ileon terminal. Además, los ganglios linfáticos mesentéricos pueden estar agrandados y edematosos.

Diagnóstico de Laboratorio:

a. DIRECTO

a.1. Microscópico

La bacteria se puede identificar a partir de improntas de heces, ganglios mesentéricos o raspado de mucosa ileal, teñidas con la técnica Ziehl-Neelsen. La presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR+) no agrupados no implica un diagnóstico definitivo.

Las lesiones consisten en un infiltrado formado por bacilos, macrófagos y células gigantes de Langhan's multinucleadas que se encuentra en la lámina propia, placas de Peyer y el córtex de los ganglios linfáticos mesentéricos. Sin embargo, las micobacterias no están presentes en todos los casos, por lo que es mejor confirmar el diagnóstico mediante histopatología fijando previamente los tejidos de interés en formol al 10%.

a.2. Cultivo

Se puede llevar a cabo mediante diferentes métodos de descontaminación, entre los que destacan el que emplea ácido oxálico e hidróxido sódico o el método del cloruro de hexadecilpiridinio (HPC). Los medios de cultivo han de contener micobactina, como el Herrold's (HEYM) y el Lowenstein-Jensen.

Se espera que las colonias de *MAP* crezcan muy lentamente, principalmente entre las 5 y las 18 semanas de incubación. Presentan una morfología pequeña (1 mm de diámetro) y son lisas y brillantes. A medida que la incubación se prolonga en el tiempo se vuelven más opacas e incrementan su tamaño (4-5 mm) a la vez que su morfología pasa de lisa a rugosa y de hemisférica a mamilada.

Además de la reducida velocidad de crecimiento, que es el principal carácter identificativo de la bacteria, el otro gran elemento diferenciador de *MAP* es su dependencia de micobactina, un compuesto quelante del hierro que permite su crecimiento en medios muy pobres en este oligoelemento. Por ello, a la hora de realizar la siembra es conveniente cultivar también ese inóculo en medios sin micobactina para demostrar la micobactindependencia.

a.3. Cultivo radiométrico (BACTEC®)

El crecimiento de las micobacterias se mide mediante la liberación de $^{14}\text{CO}_2$ (CO_2 marcado radiactivamente) producido a partir de la actividad metabólica de las mismas. Este método es mucho más rápido que el cultivo convencional pero más caro, requiriendo equipos especiales. En los últimos años también han aparecido otros métodos basados en el mismo principio que incorporan fluorescencia (indica la positividad del cultivo) como el BACTEC 960, el MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tube) o el MBBACt system.

a.4. PCR (Polimerase Chain Reaction)

Basada en la detección de determinadas secuencias de ADN de la micobacteria en muestras de heces o tejidos. Se han demostrado mejores resultados (buena sensibilidad y especificidad) a partir de muestras de tejidos.

b. INDIRECTO

b.1. Serológico

Este diagnóstico se basa en la detección de anticuerpos específicos frente a las micobacterias. Las pruebas más utilizadas son la fijación de complemento (FC), la inmunodifusión en gel de agar (IDGA) y el ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), que en la actualidad, es la prueba más sensible de las tres, aunque según Thoen y Baum (1988), es poco eficaz en la detección de casos subclínicos. La especificidad del ELISA puede

incrementarse con la adsorción de *Mycobacterium phlei* del suero, que elimina las posibles reacciones cruzadas no específicas con anticuerpos. A pesar de que la IDGA es menos sensible, resulta ser la más específica, por lo que es la técnica de referencia.

b.2. Producción de gamma-interferón

Este ensayo está basado en la liberación de gamma-interferón por parte de linfocitos sensibilizados durante 18-36 horas de incubación con un antígeno específico, un derivado de proteína purificada (PPD). Según diversos autores presenta buena sensibilidad y especificidad (Wood *et al.*, 1991; Pérez *et al.*, 1995).

b.3. Intradermoreacción

Se emplea para medir la inmunidad mediada por células, aunque tiene un valor limitado. Consiste en la inoculación intradérmica de 0,1 ml de PPD o Johnina en un lugar sin pelo o afeitado, normalmente en el tercio medio del cuello. El engrosamiento de la piel se mide 72 horas después de la inoculación, considerando como indicador de la presencia de hipersensibilidad un engrosamiento de alrededor de 2 mm. Las reacciones positivas en cérvidos pueden adoptar la forma de placas bastante difusas, por lo que la interpretación resulta mucho más complicada y subjetiva que en el ganado doméstico. La presencia de cualquier engrosamiento se considera como un resultado positivo en estas especies (Inderlied *et al.*, 1993).

Esta prueba tiene un valor limitado ya que ni la tuberculina aviar ni la Johnina poseen una gran especificidad, y además, las sensibilizaciones a las mismas o a otras micobacterias son relativamente frecuentes en los animales. Por tanto, esta prueba solo debe ser usada como test preliminar, encaminada a la iniciación de un programa de control.

2.3.2.5. Prevalencia de *Mycobacterium avium paratuberculosis* en el corzo

En este apartado, haremos referencia a los principales trabajos realizados sobre la prevalencia de infección por *Mycobacterium avium paratuberculosis* en corzos abatidos en Europa.

Los casos esporádicos de la enfermedad de Johne son relativamente frecuentes en diversas especies de cérvidos y normalmente parecen tener relación con casos en los que existe contacto con ganado doméstico infectado.

En 1966, Hillemark aisló un bacilo muy relacionado con el MAP en corzos que padecían una infección muy similar a la paratuberculosis, aunque las descripciones parecen indicar que se trataba de *Mycobacterium avium*.

En **NORUEGA**, Tryland *et al.* (2004) encontraron una seroprevalencia de paratuberculosis del 12,2% en los corzos estudiados.

En **SUECIA**, Aguirre *et al.* (1999) solamente observaron la presencia de MAP en 5 de los 985 corzos examinados (0,5%).

En un estudio realizado en la **REPÚBLICA CHECA** entre 1995 y 1998, Pavlik *et al.* (2000) hallaron que solamente 9 corzos de los 401 estudiados eran positivos a MAP (2,2%). Machackova *et al.* (2004), en otro trabajo en el mismo país, obtuvieron una prevalencia del 0,2%, al aislar el MAP en solo 2 casos positivos de los 865 animales analizados.

En **ALEMANIA**, Dedek *et al.* (1991) detectaron 9 corzos seropositivos a paratuberculosis (2,9%) de un total de 309 animales analizados.

Gennero *et al.* (1993), en un estudio sobre la seroprevalencia de paratuberculosis en diferentes rumiantes silvestres en **ITALIA**, comprobaron que únicamente el 2% de los corzos analizados resultaron positivos. En un estudio posterior, llevado a cabo en el Noroeste de Italia, Robino *et al.* (2007) no encontraron lesiones macroscópicas compatibles con paratuberculosis en

ninguno de los 69 corzos examinados, aunque hallaron una prevalencia del 38% mediante la tinción de Ziehl-Neelsen y de un 12% empleando el cultivo bacteriológico.

En un trabajo sobre diferentes enfermedades en las poblaciones de rumiantes silvestres en **FRANCIA**, Blancou (1983) observó que ninguno de los 183 corzos examinados era seropositivo. Barrat *et al.* (1985), en otro estudio llevado a cabo en corzos del mismo país, señalaron una seroprevalencia del 10,8%.

En **ESPAÑA**, Gutiérrez (2000) realizó un estudio sobre el estado sanitario de las poblaciones de rumiantes silvestres en diferentes Reservas Nacionales situadas en la provincia de León, señalando una seroprevalencia de paratuberculosis del 0,7% (2/294) en corzo.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, donde se resumen los valores de prevalencia señalados en diversos estudios realizados en corzos del continente europeo, los porcentajes de infección por paratuberculosis son inferiores al 13%.

País	Autores	Prevalencia	Número animales
Francia	Blancou (1983)	0%	183
Francia	Barrat <i>et al.</i> (1985)	10,8%	-
Alemania	Dedek <i>et al.</i> (1991)	2,9%	309
Italia	Gennero <i>et al.</i> (1993)	2%	41
Italia	Robino <i>et al.</i> (2007)	12%	69
República Checa	Pavlik <i>et al.</i> (2000)	2,2%	401
República Checa	Machackova <i>et al.</i> (2004)	0,2%	865
Noruega	Tryland <i>et al.</i> (2004)	12,2%	49
España	Gutiérrez (2000)	0,7%	294

Tabla 1.- Prevalencia de infección por paratuberculosis en corzos señalada en diversos estudios realizados en Europa.

Al igual que en la tuberculosis son válidos algunos de los comentarios de los autores para justificar los bajos o nulos valores de prevalencia presentes en los diferentes trabajos sobre paratuberculosis en corzos.

Diversos estudios consideran al **ganado doméstico** la principal fuente de infección para los silvestres, sobre todo a través de pastos compartidos (Riemann *et al.*, 1979; Jessup *et al.*, 1981; Pacetti *et al.*, 1994 y Marco *et al.*, 2002). Además, en los últimos años está teniendo lugar un incremento en la distribución y la densidad del corzo en muchas regiones europeas (Acevedo *et al.*, 2005), algo patente también en nuestra Comunidad, lo que implica un mayor contacto con el ganado doméstico que podría favorecer el contagio de diferentes enfermedades (Gortázar *et al.*, 2007). Sin embargo aunque el corzo ha aumentado mucho su distribución y densidad en la mayoría de las regiones europeas, como ya hemos comentado, y podría por tanto contactar más con el ganado doméstico la posibilidad de adquirir la infección se vería drásticamente reducida al tratarse de animales con un estatus sanitario óptimo.

En este sentido, Pavlik *et al.* (2000) detectaron bajas prevalencias de paratuberculosis en corzos, ciervos, gamos y muflones de la República Checa que compartían pastos con animales domésticos infectados. En otro trabajo llevado a cabo en el mismo país, Machackova *et al.* (2004) aislaron MAP en corzos coincidiendo con un brote de la enfermedad en ganado vacuno. Con objeto de profundizar en la epidemiología de la enfermedad, Blancou (1983) estudió un grupo de 183 corzos que se encontraban separados, mediante una barrera física, de un grupo de rumiantes domésticos infectados, apreciando que ninguno de ellos eliminaba la bacteria en heces, lo que posiblemente se debía a la situación de aislamiento en la que se hallaban.

Por el contrario, en un trabajo realizado en varias reservas nacionales de caza en León (España) donde tanto rumiantes domésticos como silvestres comparten pastos en verano, Gutiérrez (2000) obtuvo una seroprevalencia del 0,7% en corzo, en claro contraste con las observadas en el ganado doméstico de la zona (67,6% de los rebaños ovinos y el 56,2% de los caprinos). Teniendo en cuenta la transmisión fecal-oral del agente etiológico y su resistencia en el

medio, los datos parecen indicar que la importancia de la relación rumiantes domésticos-silvestres es mucho más escasa de lo esperado.

Del mismo modo las ya comentadas particularidades del corzo respecto a los demás cérvidos (más selectivos en alimentación y menos gregarios) justificarían una **menor susceptibilidad** de la especie para adquirir la infección al contacto con las micobacterias. Las oportunidades para contraer la infección a través de contaminantes ambientales es probablemente muy inferior a la de otros rumiantes silvestres. Así, en un estudio realizado en el noroeste de Italia donde diversos cérvidos estaban en contacto con ganado doméstico, y por tanto expuestos a MAP, Robino *et al.* (2007) encontraron que los corzos presentaban una menor susceptibilidad a la infección que las demás especies de rumiantes silvestres presentes.

Es necesario señalar que únicamente se han denunciado prevalencias altas, así como manifestaciones clínicas evidentes de la enfermedad, en rumiantes silvestres explotados en **régimen semi-extensivo**. Estos sistemas de cría son muy comunes en países como Nueva Zelanda o Escocia, donde la principal especie explotada es el ciervo. En estos animales la paratuberculosis es una enfermedad relativamente frecuente, ya que por lo general aprovechan pastos empleados anteriormente por rumiantes domésticos infectados (De Lisle *et al.*, 1993; Pavlik *et al.*, 2000). El contagio también se ve favorecido por la elevada concentración de animales en cautividad, que facilita la transmisión del agente. Además, el estrés generado por la mayor densidad de población conlleva un cierto grado de inmunosupresión, que incrementa las posibilidades de adquirir la infección.

Otros estudios, sin embargo, apuntan hacia la posibilidad de **ausencia de sintomatología clínica** en el corzo en condiciones naturales, al contrario que en otros cérvidos infectados con MAP (Gilmour y Nyange, 1989; Goddard, 1994). Asimismo, estos autores sospechan que los corzos pueden sufrir una forma sobreaguda de la infección, lo que causaría su muerte al poco tiempo, con la consecuente dificultad para encontrar animales positivos a la infección.

2.3.3.- Pestivirus de los rumiantes

2.3.3.1.- Etiología

Los pestivirus son virus ARN pertenecientes a la familia Flaviviridae que tradicionalmente se han dividido en tres grupos (Becher *et al.*, 1997):

- VPPC: virus de la peste porcina clásica.
- VEF: virus de la enfermedad de la frontera, que afecta a ovino.
- VDVB-EM: virus de la diarrea vírica bovina, enfermedad de las mucosas.

Las principales características de estos virus son su variabilidad genética y antigénica y una mayor capacidad para mantenerse en las poblaciones animales. Estrategias que emplean para sobrevivir al originar cepas mutantes que hacen que la respuesta inmunológica de los hospedadores sea mucho menos efectiva. El cruce de especies genera oportunidades para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente.

El virus posee un especial tropismo por las células del sistema inmune y células epiteliales de los tractos reproductivo, entérico y respiratorio ocasionando como consecuencia de su replicación en estas células, un conjunto de diversos cuadros clínicos.

Dada la diversidad del grupo hablaremos en general de pestivirus al referirnos a rumiantes silvestres, en vez de limitarnos a hablar de VDVB que es el virus específico de ganado bovino y el más importante a nivel económico. Sin embargo como se describe más adelante el VDVB puede infectar y de hecho lo hace a los rumiantes silvestres.

Existen dos genotipos antigénicamente distintos de diarrea vírica bovina (DVB): 1 y 2. Generalmente, el virus tipo 1 es el más común aunque se ha

descrito que la prevalencia del tipo 2 es casi tan alta como la del tipo 1 en Norteamérica. El VDVB de ambos genotipos puede clasificarse en función de los cambios visibles que produzcan en los cultivos celulares en formas no citopáticas y citopáticas (biotipos). El que circula en las poblaciones de ganado es el biotipo no citopático.

Cada biotipo tiene un papel específico en una variedad de síndromes clínicos, infecciones crónicas, agudas y congénitas (Brownlie, 1985; Bolin, 1995;). Los virus del tipo 2 son generalmente no citopáticos y se han asociado con brotes de infección aguda severa y el síndrome hemorrágico (Carman *et al.*, 1998). Algunos aislamientos del tipo 1 se han asociado con brotes de la enfermedad muy graves y fatales en el ganado adulto (David *et al.*, 1994). Las infecciones clínicamente asintomáticas son comunes con ambos genotipos.

La diarrea vírica bovina fue descrita por primera vez en 1946 por el Dr. Francis Fox en Nueva York (Estados Unidos). Posteriormente, en 1953 se describe la enfermedad de las mucosas (EM). El virus causante de las mismas fue aislado en 1957 y se denominó virus de la diarrea vírica bovina (VDVB). En España la primera descripción de la infección por el VDVB fue realizada por el Dr. Juan Ignacio Ovejero en el año 1971. Actualmente se acepta que ambos cuadros son causados por el mismo virus y se denomina complejo diarrea vírica bovina-enfermedad de las mucosas (DVB-EM).

En rumiantes silvestres se han detectado pestivirus en numerosas ocasiones. La primera vez que se aisló el virus en corzos fue Romvary en Hungría en el año 1965. Más tarde en el Reino Unido se describió la presencia de anticuerpos frente al virus en ciervos (Martin *et al.*, 1977), del mismo modo se aisló un virus similar en ciervos de Escocia (Nettleton *et al.*, 1988). En Estados Unidos, Ludwig y McClurkin aislaron el VDVB en ciervo de cola blanca en el año 1981 (Van Campen y Williams, 1996). En Suecia también se detectó un virus similar a la enfermedad de las mucosas en gamos (Díaz *et al.*, 1988).

Del mismo modo también se han detectado anticuerpos frente a VDVB en rebecos (Doyle y Heuschele, 1983; Baradel *et al.*, 1988) aunque no existen

referencias bibliográficas que citen el aislamiento del virus en dicha especie. A finales de la década de los 90 en Alemania se aisló en corzos un pestivirus similar a uno bovino (Fischer *et al.*, 1998).

En Noruega se cita una elevada prevalencia de infección en renos mientras que en los rumiantes domésticos es baja. Esto indicaría que los rumiantes silvestres podrían actuar como un reservorio del virus (Loken *et al.*, 1995). Y nos hace recordar que los pestivirus presentan la posibilidad de saltar barreras específicas (Becher *et al.*, 1997) por lo que el contacto entre domésticos y silvestres posibilitaría la transmisión (Meyling *et al.*, 1990).

Estos virus se hallan presentes en los rumiantes silvestres y además la infección por VDVB se ha descrito en ciervos y corzos. Cabe señalar que hasta la década del 2000 (Lavín y Marco, 2006) nunca un pestivirus se había asociado con una epidemia en una especie silvestre.

2.3.3.2.- Epidemiología

El VDVB es la causa de una de las más importantes enfermedades virales del ganado. La enfermedad presenta una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. Hallándose las prevalencias más bajas en países o áreas con menos desarrollo que en zonas con sistemas de producción bovina más avanzada.

- *Hospedadores:*

Los hospedadores habituales de pestivirus son el ganado vacuno, el ovino y el porcino. A los que hay que sumar unas 50 especies cautivas y de vida libre distribuidas entre las familias Cervidae, Camelidae, Antilocapridae y Bovidae entre las que se haya el corzo (Doyle y Heuschele, 1983; Nettleton, 1990). Hay que tener en cuenta que cruzan la barrera de especie por lo que se deben tomar ciertas consideraciones a la hora de implementar un programa de control

y saber que los rumiantes silvestres pueden representar un papel importante en la epidemiología de la enfermedad.

- *Importancia económica:*

Es una enfermedad que limita la producción y es causante de diferentes problemas de importancia económica en todos los segmentos de la ganadería. Las pérdidas en la productividad tienen su origen en que afectan gravemente el desempeño productivo y reproductivo del animal como abortos, infertilidad etc., además de las enfermedades clínicas causadas por infecciones agudas, pérdidas por infecciones persistentes e inmunosupresión, así como su asociación con otras enfermedades respiratorias y entéricas.

- *Prevalencia en ganado doméstico de Galicia:*

En el ganado vacuno de nuestra comunidad la seroprevalencia de infección por DVB es del 27,2 % (Casademunt *et al.*, 2004). Muy similar a la de otras Comunidades como Cataluña (26,7%), Extremadura (26,2%), País Vasco (21%) y Madrid (28%) y algo inferior a la de Andalucía (36,8%), Castilla La Mancha (34,4%) o Castilla-León (47%).

2.3.3.3.- Manifestaciones clínicas

Los diferentes estudios epidemiológicos y los hallazgos clínicos hacen pensar que el cuadro clínico y la patogenia de los pestivirus en rumiantes silvestres es similar al del ganado vacuno y ovino (Loken, 1995). Por lo que describiremos la sintomatología en estas últimas especies como paso previo a los datos que se conocen sobre rumiantes silvestres.

Ganado vacuno

El VDVB es el virus específico de ganado bovino y es el responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado

de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes. Así, nos podemos encontrar la siguiente sintomatología:

- **Diarrea vírica bovina aguda:** es una infección postnatal aguda, de severidad variable, en animales seronegativos e inmunocompetentes.

+ **Infección subclínica:** la mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad (Baker, 1995). Se desarrollan anticuerpos neutralizantes y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida.

+ **Complejo diarrea neonatal bovina:** cuando fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los terneros. Infecciones concurrentes con enteropatógenos resultan en manifestaciones clínicas más severas, debido al efecto inmunodepresivo del VDVB o simplemente a un sumatorio de efectos.

+ **Infección aguda severa:** cada vez son más frecuentes los casos de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad, asociada con virus de alta patogenicidad. Se caracteriza por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, “tormenta” de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita.

+ **Síndrome hemorrágico:** ocasionado por virus del genotipo 2 del VDVB. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y finalmente muerte del animal. Esta sintomatología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria.

+Enfermedades respiratorias: el VDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la virulencia de otros agentes respiratorios. Además, se ha demostrado que pueden actuar como agentes primarios de neumonías (Baule, 2000).

+ Inmunodepresión: el VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la virulencia de microorganismos coinfectantes. Presenta una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos. En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte.

+ Trastornos reproductivos: producen los mayores impactos económicos de la infección con el VDVB (Dubovi, 1994). Provoca un descenso de la capacidad reproductiva tanto en el macho como en la hembra. En esta última la infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El VDVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Los efectos de la infección van a depender del momento de la gestación. El impacto del VDVB durante la preñez se divide en cuatro períodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante estos intervalos de tiempo específicos.

Etapa embrionaria (0–45 días): las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasiona muerte embrionaria y repeticiones de celo hasta que desarrollen respuesta inmune. El resultado de la infección puede ser citolítico o no. Ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando en el desarrollo de malformaciones.

Día 45 a 125 de gestación: este período comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al VDVB. La infección con biotipos no citopáticos (NCP) antes que el feto adquiera competencia inmunológica, resulta en el

nacimiento de animales persistentemente infectados (PI) e inmunotolerantes. Durante este período también se produce muerte fetal con momificación o aborto meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis.

Día 125 a 175 de gestación: representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de alteraciones del desarrollo (hipoplasia cerebelar, microencefalia, hidrocefalia, microftalmia, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, retraso general del crecimiento, deformidades esqueléticas...). También se pueden producir abortos, pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de gestación.

175 días de gestación en adelante: el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este período resultan en el nacimiento de terneros seropositivos normales o débiles; mientras que los abortos son ocasionales.

- Infección persistente: un animal PI es aquél en el que es posible aislar el virus de la sangre o tejidos en dos ocasiones sucesivas con un intervalo no menor a dos semanas. Estos animales son virémicos durante toda su vida y no producen anticuerpos contra la cepa que les originó inmunotolerancia. La infección persistente debe ser considerada en todo ternero pequeño al nacimiento, con escaso desarrollo y ganancia de peso, débil y con cuadros recurrentes de enfermedad respiratoria y digestiva.

- Enfermedad de las mucosas: esta condición solo ocurre en animales PI que sufren sobreinfección con biotipos citopáticos (CP) homólogos. En esta forma se aíslan ambos biotipos, que son antigénicamente similares. El biotipo CP surge de mutaciones del biotipo NCP, aunque no se descartan fuentes externas. Es una forma esporádica, fatal, de curso agudo o crónico y se caracteriza por severa leucopenia, diarrea profusa, erosiones y ulceraciones en el sistema digestivo.

Ganado ovino:

La enfermedad de la frontera se manifiesta en los corderos con la siguiente sintomatología (Nettleton, 1990):

- Abortos y/o nacimiento de corderos débiles.
- Dificultades motrices y ataxia cerebelosa con dificultad para mantenerse de pie.
- Modificaciones de la lana e incluso pigmentaciones anormales.
- Atrofia del diafragma, problemas articulares y deficiente desarrollo corporal.

Existe también el concepto de animal persistentemente infectado.

Rumiantes silvestres

Los síntomas de las infecciones por pestivirus en los ungulados silvestres, al igual que ocurre en los domésticos, dependen de la virulencia de la cepa, del estado inmunitario del animal, de la vía de transmisión y de la dosis infectiva. Pueden ser muy variados, aunque fundamentalmente se trata de una enfermedad intestinal, en ocasiones hemorrágica, como en bovino o de una enfermedad congénita y reproductiva, como en el caso de ganado ovino.

El concepto de PI en estos animales no está claro. En el caso de que existiesen no sobrevivirían mucho tiempo en condiciones naturales, debido a su menor tamaño y debilidad. Aunque no hay estudios que citen la existencia de animales con estas características no quiere decir que no los haya. Los animales silvestres débiles morirían víctimas de un medio ambiente hostil o presa de los depredadores lo que dificultaría mucho su hallazgo. Se ha aislado el virus en animales seronegativos que podrían tener la calificación de PI (Van Campen y Williams, 1996).

En Suecia se describió una infección en corzos por un virus relacionado con VDVB que causaba lesiones erosivas, ulcerativas y necrotizantes en la

mucosa digestiva y lesiones catarrales a hemorrágicas en intestino (enteritis) con la consiguiente sintomatología digestiva (Díaz *et al.*, 1996). Asimismo, previamente, en gamos de ese país se describió la enfermedad con sintomatología de letargia, adelgazamiento, anorexia e incluso muerte de los animales. El agente aislado resultó ser un VDVB que se caracterizó por provocar la formación de corpúsculos intracitoplasmáticos en la mucosa digestiva (Díaz *et al.*, 1989).

En rebecos se han observado afecciones respiratorias que cursaban con procesos infecciosos respiratorios, adelgazamiento marcado, debilidad y dificultades de movimiento, e incluso sintomatología neurológica que inducía cambios comportamentales en la especie. Además presentaban pelaje con mal aspecto o incluso zonas de la cara, cuello y tronco sin pelo e hiperpigmentaciones (Lavín y Marco, 2006).

Ya en infecciones experimentales en ciervo de cola blanca y ciervo mulo se han observado lesiones y síntomas inespecíficos. Con posterioridad el virus fue aislado a partir de hisopos nasales lo que demostró la receptividad de estas especies frente al VDVB (Van Campen *et al.*, 1997).

2.3.3.4.- Diagnóstico

1) **Clínico-lesional:**

La presencia de determinados síntomas y lesiones expuestas anteriormente sirven para diagnosticar la infección por pestivirus. En cérvidos la observación al microscopio electrónico de corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos en el epitelio digestivo es característica de la DVB.

2) **Diagnóstico de Laboratorio:**

a. DIRECTO

a.1. Aislamiento del virus

El aislamiento viral es el método de referencia, es 100% específico y altamente sensible. Se efectúa a partir de hisopos nasales, semen, sangre y varios tipos de muestras de tejidos. Se cultivan las células en placas con múltiples pocillos y se inoculan con el suero problema incubándose posteriormente. La presencia de biotipos NCP se detecta con el empleo de anticuerpos anti-VDVB marcados con peroxidasa o fluorocromos.

El VBVD no citopático es un contaminante común de tejidos bovinos frescos, y ha de comprobarse por pruebas regulares que los cultivos celulares están libres de virus contaminantes (Edwards, 1993; Bolin *et al.*, 1994). El crecimiento de ambos biotipos es generalmente satisfactorio y es crucial diferenciar ambos para el diagnóstico de la enfermedad.

a.2. Detección del antígeno

La identificación rápida del antígeno en muestras de tejidos y sangre puede efectuarse por medio de inmunofluorescencia, inmunoperoxidasa y ELISA (Brock, 1995). La mayoría de los últimos están basados en el principio del ELISA tipo sandwich, con un anticuerpo de captura ligado a la fase sólida, y un detector de anticuerpo conjugado a un sistema de señal, tal como la peroxidasa.

a.3. Detección de ácidos nucleicos

La detección del ARN genómico del pestivirus mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sirve para diagnóstico. Del mismo modo, el método de la PCR con transcriptasa inversa (PCR-RT) se puede adaptar a la

detección de ARN vírico de DVB también para fines de diagnóstico (Brock, 1995; Hamel *et al.*, 1995).

a.4. Detección de un animal PI

Para saber si un animal es PI hay que demostrar la presencia del virus y la ausencia de anticuerpos en dos tomas de sangre separadas, generalmente en las células mononucleares del “buffy coat” (fracción de sangre anticoagulada centrifugada que contiene la mayor parte de glóbulos blancos y plaquetas) de la sangre completa y suero (Edwards, 1990).

a.5. Inmunohistoquímica

Los métodos de marcaje con enzima son útiles para detectar antígeno de VDVB en cortes de tejido (Ruth, 1987; Wilhelmsem *et al.*, 1991), particularmente cuando se dispone de anticuerpos monoclonales adecuados. Es importante que los reactivos y procedimientos usados estén completamente validados, y que se elimine la reactividad inespecífica. Para ganado infectado persistentemente puede usarse casi cualquier tejido, pero se obtienen mejores resultados con nódulos linfáticos, tiroides, piel, cerebro, cuarta cavidad del rumen y placenta. Se ha demostrado que las biopsias de la piel, como las obtenidas por incisión en la oreja, son útiles para el diagnóstico in-vivo de la infección persistente por DVB (Clarke *et al.*, 1987).

b. INDIRECTO

Serológico

La detección de anticuerpos frente a pestivirus indica que la infección está presente, si bien pueden ser anticuerpos calostrales o producto de una vacunación. Los anticuerpos frente a pestivirus duran bastante tiempo pero presentan el inconveniente de no aparecer en el animal PI aunque sí lo hacen es lo que conviven con él. Existen varias técnicas entre las que destacamos:

- Inmunodifusión en gel de agar (IDGA): presenta baja sensibilidad, si bien tiene la ventaja de ser barata, sus desventajas están relacionadas con el tiempo de procesado de muchas muestras además de que la seroconversión se observa con dificultad. Es una técnica que se emplea poco.
- Pruebas de neutralización del virus: es la técnica de referencia. Se basa en la neutralización por parte de los anticuerpos séricos evitando la aparición del efecto citopático. Se emplean células de origen bovino que no estén contaminadas con el VDVB para evitar interferencias. Las cepas víricas que más se utilizan son la "NADL" y la "Oregón C24", siendo ambas citopáticas. Aunque en la actualidad hay técnicas de inmunomarcaje que permiten la detección del crecimiento o la neutralización de cepas no citopáticas cuando se considere deseable. Del mismo modo es importante que se usen en la prueba los tipos 1 y 2 de VDVB y no solo aquél que se sospeche que está presente, ya que esto puede conducir a un resultado incorrecto.
- Inmunofluorescencia indirecta (IFA): es simple, rápida y con sensibilidad alta. La reacción se manifiesta por la aparición de la fluorescencia en el citoplasma de las células infectadas al revelarse la unión de los anticuerpos.
- Fijación de complemento (FC): se usa poco. Los anticuerpos de la fijación de complemento aparecen antes que los neutralizantes y desaparecen rápidamente.
- Inmunoperoxidasa: similar a la IFA solo que la enzima es peroxidada en vez de un fluorocromo. Se lee con adición de un cromógeno (3-amino, 9 etilcarbazol).
- ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay): es una técnica sensible, rápida, fiable y económica. Concuerda bastante con la neutralización vírica y menos con la FC. La mayor complicación se plantea a la hora

de la preparación del antígeno. Se trata de una prueba inmunoenzimática de competición que detecta específicamente anticuerpos frente a la proteína p80/NS3. Esta proteína se produce por escisión de la p125/NS23 que es detectable en grandes cantidades durante la replicación de las diferentes cepas (citopáticas y no citopáticas) del virus, pues es indispensable para la multiplicación de los mismos. La p125/NS23 es una proteína no estructural y es la más conservada en todas las cepas de pestivirus, presenta actividad de licasa en el extremo de carbono terminal y de proteasa en el extremo amino terminal.

2.3.3.5. Prevalencia de pestivirus en el corzo

En este apartado, haremos referencia a los principales trabajos realizados sobre la prevalencia de infección por pestivirus en corzos abatidos en Europa.

En **NORUEGA**, Lillehaug *et al.* (2003) en un estudio sobre la enfermedad en rumiantes silvestres obtuvieron una seroprevalencia del 12,3% en corzos.

En otro trabajo realizado en **DINAMARCA** sobre la prevalencia de esta enfermedad en diferentes especies de rumiantes silvestres, Nielsen *et al.* (2000) no detectaron ningún corzo seropositivo.

Frolich (1995) señaló un valor de prevalencia en torno al 10% en corzos de **ALEMANIA**, mientras en el mismo país Müller y Beier (1997) observaron que el 4,68% de los corzos presentaban anticuerpos frente a estos patógenos.

Baradel *et al.* (1988) en otro trabajo sobre diferentes especies silvestres obtuvieron una seroprevalencia del 0,7% en corzos de **FRANCIA**.

En **AUSTRIA**, Krametter *et al.* (2004) no observaron que ningún corzo de los 77 estudiados presentara anticuerpos frente al patógeno.

En un trabajo sobre la seroprevalencia de pestivirus en cuatro especies de ungulados silvestres de **ITALIA**, Olde Riekerink *et al.* (2005) observaron que ninguno de los corzos analizados presentaba anticuerpos frente al virus. En el mismo país en otro estudio sobre la infección en rebecos y corzos, Gaffuri *et al.* (2006) hallaron una seroprevalencia del 18% en los rebecos pero no observaron ningún corzo con anticuerpos frente a la infección.

En **ESPAÑA**, Gutiérrez (2000) en un estudio en la provincia de León encontró una prevalencia frente a pestivirus del 5,5%, ya que detectó anticuerpos en los sueros de 11 corzos de los 198 analizados.

Por otro lado, en otro trabajo sobre pestivirus en diferentes especies de rumiantes silvestres y domésticos en los Pirineos, Marco *et al.* (2009) no encontraron corzos positivos. Posteriormente Marco *et al.* (2011) en la misma región tampoco observaron que los corzos presentaran anticuerpos frente a la infección.

Boadella *et al.* (2010), en un estudio sobre varias enfermedades infecciosas en diferentes regiones de España hallaron una seroprevalencia del 1,5% al detectar únicamente anticuerpos frente a pestivirus en 8 de los 519 corzos analizados.

Como se puede observar en la Tabla 2, donde se resumen los valores de prevalencia señalados en diversos estudios realizados en corzos del continente europeo, los porcentajes de infección por pestivirus son inferiores al 13%.

País	Autores	Prevalencia	Número animales
Austria	Krametter <i>et al.</i> (2004)	0%	77
Alemania	Frolich (1995)	10%	123
Alemania	Müller y Beier (1997)	4,68%	-
Dinamarca	Nielsen <i>et al.</i> (2000)	0%	361
Noruega	Lillehaug <i>et al.</i> (2003)	12,3%	635
Italia	Gaffuri <i>et al.</i> (2006)	0%	207
Italia	Riekerink <i>et al.</i> (2005)	0%	73
Francia	Baradel <i>et al.</i> (1988)	0,7%	563
España	Gutiérrez (2000)	5,5%	198
España	Marco <i>et al.</i> (2009)	0%	21
España	Boadella <i>et al.</i> (2010)	1,5%	519
España	Marco <i>et al.</i> (2011)	0%	43

Tabla 2.- Prevalencia de infección por pestivirus en corzos señalada en diversos estudios realizados en Europa.

Para explicar estos bajos o nulos valores de prevalencia, los investigadores apuntan a diferentes causas:

En los corzos las rutas de eliminación de pestivirus no están todavía claras pero se sospecha que al igual que en ovino y vacuno la transmisión oronasal presenta la mayor relevancia (Loken, 1995) al ser eliminados por la mayoría de secreciones y excreciones corporales (Meyling *et al.*, 1990). Como ya hemos comentado anteriormente el corzo con respecto a los demás cérvidos es más territorial y no forma rebaños, condiciones que no favorecerían un contacto más estrecho entre animales y por tanto dificultarían la transmisión vírica confiriéndole una **menor susceptibilidad**.

Así Gutiérrez (2000) en un estudio sobre tres especies de rumiantes silvestres (ciervo, rebeco y corzo) halló que la menor seroprevalencia de infección se correspondía al corzo (5,5%) y la mayor al ciervo (24%). Resultados similares obtuvieron tanto Riekerink *et al.* (2005) como Marco *et al.*

(2009; 2011) en sus respectivos estudios con otras especies implicadas, rebecos o ciervos, que sí presentaron mayores prevalencias que el corzo.

Los pestivirus presentan una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones de ganado doméstico presentando elevadas prevalencias. A pesar de ello el **comportamiento social y especialmente solitario** de este cérvido (Kraemer, 1969; Bassano *et al.*, 1995), que no favorece el contacto con los domésticos, podría explicar los resultados de los diferentes estudios. Así, Marco *et al.* (2009) observaron prevalencias elevadas en el ganado ovino de la zona y no detectaron anticuerpos frente a la infección en los corzos estudiados.

Como ya hemos citado anteriormente el mayor riesgo de diseminación de los pestivirus lo constituyen los PI (Bolin, 1990). La existencia de animales con similares características a los conocidos PI domésticos no está del todo clara en el corzo. Por lo que de existir en condiciones naturales corzos PI, la supervivencia de los mismos se vería muy reducida al ser víctimas de la **selección natural** (Loken *et al.*, 1995) y por tanto se minimizaría mucho la posibilidad de transmisión vírica.

En contraste con estos resultados, Frolich (1995) o Lillehaug *et al.* (2003) hallaron seroprevalencias por encima del 10%. Justifican las mismas con respecto a los demás estudios en que los pestivirus sean probablemente endémicos entre los corzos de las zonas de estudio y a que podría tratarse de **cepas en circulación específicas** de cérvidos. La presencia de estos pestivirus “nuevos” dificultaría la detección por las técnicas actuales y más adaptadas al ganado doméstico e incluso podrían darse falsos resultados positivos debido a reacciones cruzadas inespecíficas.

De todas maneras las prevalencias en general que muestran estos estudios sobre el corzo son bajas o nulas en su mayoría. Por lo que a pesar de que los corzos puedan constituirse en reservorios de infección (no hay que olvidar que los pestivirus pueden saltar la barrera de especie) no parecen suponer un riesgo de importancia para los domésticos. Aún así la

caracterización de los pestivirus, vías de transmisión y manifestaciones clínicas de los mismos en estos animales y su control requerirían una mayor investigación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Animales

Se procesaron 218 muestras de corzos (187 machos y 31 hembras) abatidos, durante las temporadas de caza 2007-2008 y 2008-2009, en diferentes TECORES de la Comunidad de Galicia.

Según el Decreto 284/2001, de 11 de octubre de 2001, por el que se aprueba el reglamento de caza de Galicia, las dos modalidades que se permiten para abatir esta especie son el rececho y el gancho:

- **Gancho:** es un lance de caza colectivo para la caza mayor y del zorro, en la que pueden intervenir un máximo de 10 cazadores distribuidos en 30 puestos, que pueden variar durante el lance. Se permite utilizar hasta 30 perros, distribuidos en dos grupos como máximo y estos pueden ir acompañados por los cazadores durante la caza. Esta modalidad se lleva a cabo entre los meses de septiembre y octubre.
- **Rececho:** modalidad de caza silenciosa en la que no intervienen perros u en la que el cazador con ánimo de abatir una pieza de su interés, busca la misma con ayuda de un guía u otro cazador; fundamentalmente tiene lugar entre abril y agosto.


Para la recogida de muestras nos pusimos en contacto con los presidentes, o persona en la que delegaran, de los diferentes TECORES en los que estábamos interesados en obtener muestras y se les explicó la manera correcta de hacerlo.

A los cazadores se les entregó una ficha, elaborada por nosotros, en la que debían anotar los datos relativos a la zona de captura y otros referidos al animal; así como, dos tubos Vacutainer™ sin anticoagulante con sus correspondientes jeringas y agujas y un saco para depositar la totalidad de las vísceras. Todo el material correspondiente a un animal tenía la misma numeración para facilitar la identificación de las muestras (Figura 67).

Universidad de Santiago de Compostela
FACULTAD DE VETERINARIA
LUGO
PARASITOLOGÍA
E ENFERMEDADES PARASITARIAS

FICHA DE CAMPO

Corzo N°:



CUERNA:

1.- Color: Claro Marrón Oscuro

2.- Perlado: Poco Medio Mucho

3.- Rosetas: Delgadas Gruesas Muy gruesas

4.- Desarrollo de las puntas: Poco Medio Mucho

5.- Número de puntas: Derecha Izquierda

	DERECHA	IZQUIERDA
1- Longitud de ambas cuernas (AB)	(mm)	(A'B')
2- Longitud de las puntas anteriores (CD)	(mm)	(C'D')
3- Longitud de las puntas posteriores (EF)	(mm)	(E'F')
4- Perímetro de ambas rosetas (R)	(mm)	(R')
5- Altura	(mm)	(mm)
6- Anchura (BB')	(mm)	(mm)

1.- DATOS DEL T.E.C.O.R.:

NOMBRE: MATRÍCULA:

TÉRMINO MUNICIPAL: PROVINCIA:

2.- DESCRIPCIÓN DEL ENTORNO EN QUE FUE ABATIDO EL ANIMAL:

FECHA: LOCALIDAD:

TÉRMINO MUNICIPAL: PROVINCIA:

VEGETACIÓN PREDOMINANTE EN LAS 100 ha CIRCUNDANTES:

Bosque autóctono (castaños, robles...) Pinos Praderas

Monte bajo (tojós, uces, xestas...) Eucaliptos Otros

3.- DESCRIPCIÓN DEL CORZO:

SEXO: Macho Hembra

EDAD: Joven (0-2 años) Adulto (3-5 años) Viejo (más de 6)

ESTADO CORPORAL:

Muy delgado Delgado Normal Gordo Muy gordo

DATOS ANATÓMICOS:

1.- Contorno tórax: (mm)

2.- Cabeza-cuerpo: (mm)

3.- Altura a la cruz: (mm)

4.- Pie posterior: (mm)

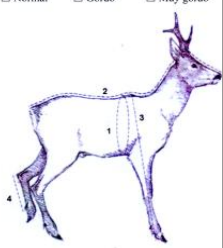
5.- Peso completo: (Kg)

1.- Nivel de la anilla a la cruz.

2.- Medir con el animal de costado, estirado en posición natural, siguiendo el contorno desde el extremo del hocico al extremo de la rabanilla.

3.- Medir con el animal de costado, desde el extremo de la pecaña, en postura de andar, hasta lo más alto del hombro.

4.- Medir desde la base de la pecaña (donde empieza, no la punta) hasta la curva del salto (flexionar el pie).



4.- MUESTRAS RECOGIDAS: (señalar)

SANGRE VÍSCERAS PIEL

LAS MUESTRAS DEBEN CONSERVARSE EN UN LUGAR LO MÁS FRESCO POSIBLE Y EN TODO CASO LEJOS DE LA ACCIÓN DIRECTA DEL SOL.

Nos pondremos en contacto con ustedes para proceder al transporte de las muestras hasta el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria. Ante cualquier duda o sugerencia póngase en contacto con nosotros en el Teléfono: 982285900 – (extensión 22102-22101) (M^o Patrocino Mirronda) o en 615343969 (María Pardo) - 600828844 (Luis Vázquez).

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

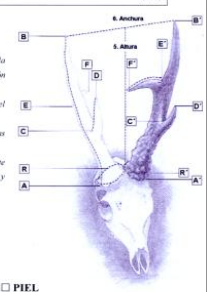


Figura 67.- Ficha y material proporcionado para la toma de muestras.

La edad de los animales la calcularon los cazadores basándose en la condición de las piezas dentarias (Sáenz de Buruaga *et al.*, 2001). Según este criterio, dispusimos de 2 grupos de corzos: 30 jóvenes que tenían menos de 2 años y 188 adultos con edades comprendidas entre 2 y 8 años.

Además, a los cazadores se les indicó como tomar las muestras de sangre directamente del corazón (Figura 68); se empleó una aguja de 16 cm de largo y 18G para evitar posibles contaminaciones y la sangre se depositó en dos tubos al vacío, que se identificaron convenientemente.

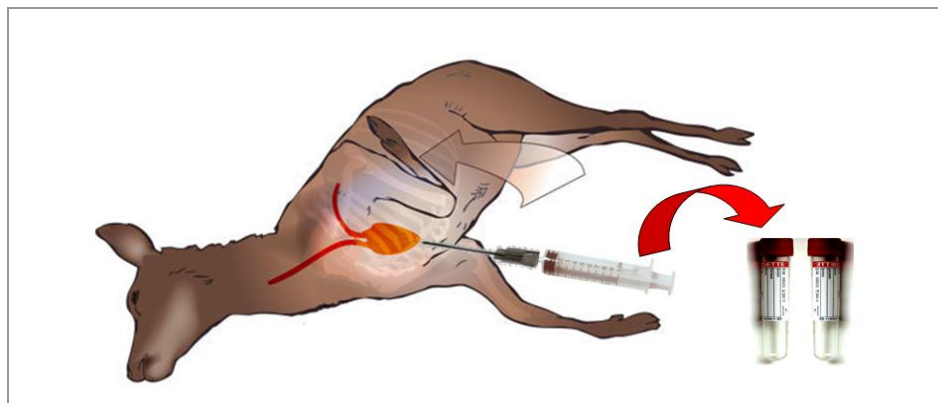


Figura 68.- Obtención de las muestras de sangre.

Una vez trasladadas las muestras al laboratorio, las muestras de sangre se mantuvieron en refrigeración, aproximadamente, 24 horas para favorecer su desuerado. Posteriormente, se centrifugaron a 2777G (4100 rpm) durante 10 minutos en una centrífuga Mixtasel (P Selecta[®], España). El suero se dispensó en cuatro tubos de microcentrífuga tipo Eppendorf que se identificaron con el número del corzo al que correspondían y, posteriormente, se conservaron en congelación a -20°C hasta su utilización.

Los diferentes órganos o vísceras de cada uno de los corzos se distribuyeron en bolsas individuales, convenientemente numeradas y se congelaron a -20° C hasta su examen.

3.2.- Zona de estudio

Galicia está situada en el Noroeste de España y tiene una superficie de 29.574 km². Su latitud está comprendida entre 43° 47' N (Estaca de Bares) y 41° 49' N (frontera con Portugal en el Parque del Xurés) y su longitud, entre 6° 42' O (límite entre Ourense y Zamora) y 9° 18' O (Cabo Touriñán). Además, Galicia limita al Norte con el Mar Cantábrico, al Sur con Portugal, al Este con la provincia de León, Zamora y Asturias y al Oeste con el Océano Atlántico.

La geografía gallega se caracteriza por el contraste entre el relieve costero y el del interior, existiendo una marcada diferencia entre las llanuras septentrionales y las sierras y depresiones meridionales. La orografía del interior de Galicia se caracteriza por montañas bajas y romas, entre las que discurren numerosos y largos ríos, mientras que en las cuencas atlántica y cantábrica los ríos son más cortos.

Las principales cadenas montañosas de esta comunidad son las sierras de O Xistral (norte de Lugo), Os Ancares (frontera con León y Asturias), O Courel (frontera con León), O Eixo (frontera entre Ourense y Zamora; a 2.124 metros se encuentra Pena Trevinca, el techo de Galicia), Macizo de Manzaneda (corazón de la provincia de Ourense), O Faro (frontera entre Lugo

y Pontevedra), Cova da Serpe (frontera Lugo y A Coruña), Montemaior (provincia de A Coruña), Montes do Testeiro (entre Pontevedra y Ourense), A Peneda, y las de O Xurés y O Larouco (frontera entre Ourense y Portugal).

A Galicia, por su situación en el noroeste de la Península Ibérica, le corresponde un clima oceánico que, según Rodríguez-Rajo *et al.* (2003), se caracteriza por ligeras variaciones de temperatura, siendo la temperatura media anual de 11,5 °C y las medias de las temperaturas máximas y mínimas de 16,8 °C y 6,2 °C, respectivamente. Las precipitaciones anuales (963 mm) son abundantes aunque irregulares, registrándose los valores medios más elevados en los meses de invierno (124,8 mm) y los más bajos en verano (20 mm). No obstante, dentro de esta Comunidad hay variaciones climáticas ostensibles que dependen de las zonas (Carballeira *et al.*, 1983). Teniendo en cuenta las condiciones edafo-climatológicas de Galicia y para facilitar la exposición de los resultados, así como su interpretación, hemos dividido el área de estudio en 3 zonas: Costa, Centro y Montaña (Fig. 69).

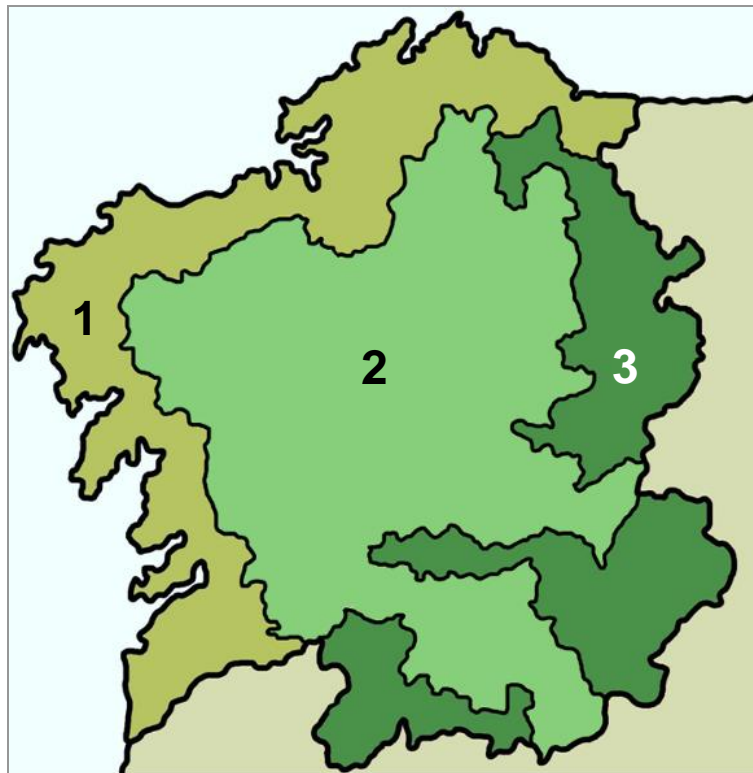


Figura 69.- Zonas (1= Costa, 2= Centro, 3= Montaña) en las que se divide Galicia según las principales condiciones edafo-climáticas.

La **ZONA DE LA COSTA**, comprende los municipios costeros de las provincias de A Coruña, Lugo y Pontevedra. La altura media se sitúa entre 0 y 200 metros a nivel del mar y presenta una pendiente moderada. El **clima es marítimo**, caracterizado por temperaturas y precipitaciones moderadas y déficit hídrico bajo.

La **ZONA CENTRO** se corresponde con la meseta central y su altitud oscila entre los 200 y los 650 metros y se caracteriza por pendientes muy suaves. El **clima es templado cálido**, debido a que las Sierras Septentrionales y Orientales resguardan esta área, propiciando que las precipitaciones sean menores que en la Costa y que el déficit hídrico sea moderado.

La **ZONA DE MONTAÑA** está formada por las principales cadenas montañosas de Galicia (O Xistral, Ancares, O Courel, O Eixo, Manzaneda, O Faro, Cova da Serpe, Montemaior y O Xurés). La altitud oscila entre 650 y 1500 m, con pendientes muy acusadas. El **clima es pirenaico** y se caracteriza por bajas temperaturas, elevadas precipitaciones y ausencia de déficit hídrico.

En la Figura 70, se localizan las localidades de procedencia de las muestras que, en general, coinciden con las zonas de mayor densidad de corzo en Galicia (véase Figura 4).

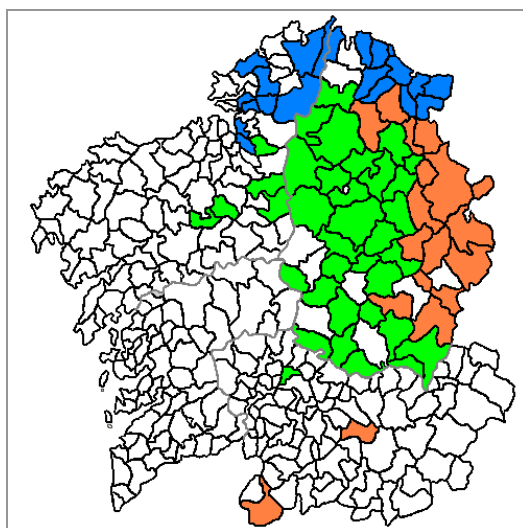


Figura 70.- Distribución de las localidades de procedencia de los corzos en función de la zona climática: ■ Costa, ■ Centro y ■ Montaña.

En la zona de la **Costa** se recogieron muestras de 45 corzos procedentes de los ayuntamientos de Foz, Burela, Alfoz, O Valadouro, Ribadeo, Trabada, Xove, O Vicedo, Lourenzá, Cervo y Barreiros en Lugo; y Ortigueira, Mañón, San Sadurniño, As Pontes, Paderne, Cabanas, Miño, Pontedeume, A Capela y Valdoviño en A Coruña.

De la zona **Centro** se obtuvieron muestras de 99 corzos que procedían de los cotos de caza de O Corgo, Cospeito, Carballedo, Sober, Lugo, Castroverde, Castro de Rei, Lán cara, Outeiro de Rei, Friol, Meira, Pol, Xermade, Pastoriza, Sarria, Vilalba, Begonte, Quiroga, Pobra de Brollón, Guntín, O Saviñao, Pantón, O Páramo, Guitiriz, Bóveda, Ribas de Sil, Muras, Taboada y Antas de Ulla en la provincia de Lugo y Oroso, Curtis, Sobrado dos Monxes, Frades e Irixoa en la provincia de A Coruña.

De la zona de la **Montaña**, se recogieron muestras de 74 corzos capturados en los municipios de A Fonsagrada, Cervantes, Folgado do Courel, Mondoñedo, Navia de Suarna, O Incio, Becerreá, Abadín, Pedrafita do Cebreiro, Triacastela, A Pontenova, Negueira de Muñiz, Riotorto, Baleira y Baralla en la provincia de Lugo y Lobios, Amoeiro y Vilar de Barrio en Ourense.

En la Tabla 3, se resumen los diferentes parámetros climáticos que se han tenido en cuenta y que se obtuvieron de los datos recogidos por las diferentes estaciones meteorológicas (Meteogalicia, Xunta de Galicia).

PARÁMETROS	COSTA	CENTRO	MONTAÑA
Temperatura media anual (°C)	14	12	10
Media de las temperaturas máximas (°C)	17	16	14
Nº de días con temperaturas superiores a 18°C	158	185	70
Media de las temperaturas mínimas (°C)	10	7	5
Oscilación media anual (°C)	7	9	9
Precipitación total anual (mm)	1300-1500	< 1300	> 1500
Déficit hídrico (mm)	-50 a -100	> -100	0 a -50

Tabla 3.- Parámetros climáticos considerados en las 3 zonas de estudio.

Finalmente, cabe señalar que la vegetación en Galicia se caracteriza por grandes superficies forestales, en las que crecen importantes especies vegetales en estado natural. No obstante, en las últimas décadas se aprecia que las características del bosque gallego están cambiando debido a la importación del eucalipto, por lo que el número de bosques autóctonos es reducido; localizándose los mismos sobre todo en el interior de la Comunidad.

3.3.- Técnicas de diagnóstico

3.3.1.- Agentes parasitarios

3.3.1.1.- Obtención e identificación de nematodos broncopulmonares

El estudio de los nematodos presentes en el tracto respiratorio (Fig. 71) solo se pudo realizar en 201 corzos, debido a que a las muestras de 17 animales les faltaban la tráquea y/o pulmones o presentaban daños importantes que hacían imposible su análisis.

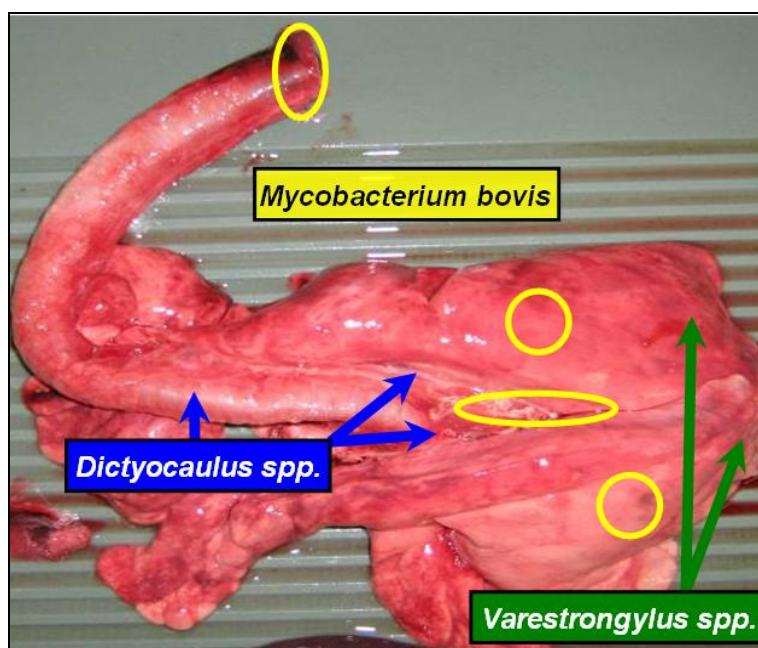


Figura 71.- Examen del aparato respiratorio para el estudio de nematodos broncopulmonares y de *Mycobacterium bovis*.

En el laboratorio se realizó una inspección macroscópica del pulmón y para establecer la distribución de las lesiones compatibles con bronconeumonías verminosas, éstas se anotaron en una plantilla (Fig. 72). Posteriormente, la tráquea y los bronquios principales se abrieron longitudinalmente con ayuda de unas tijeras, y se examinaron cuidadosamente para extraer los adultos de los nematodos pulmonares y además, y con el mismo fin, se diseccionó todo el parénquima pulmonar (Fig. 73).

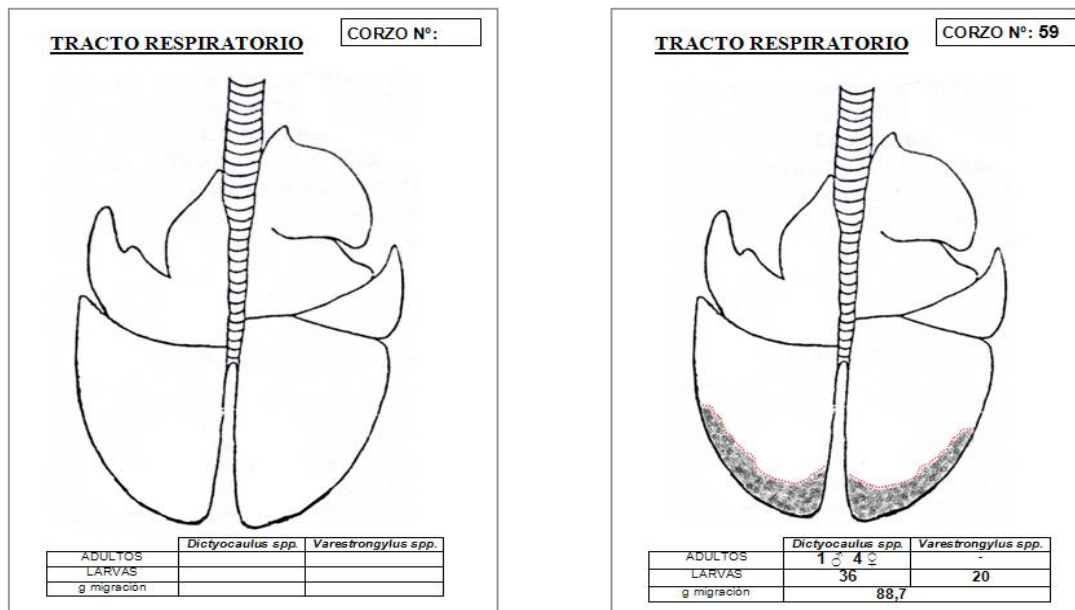


Figura 72.- Plantilla empleada para anotar las lesiones pulmonares.

El tejido pulmonar que presentaba lesiones, se pesó, troceó, se envolvió en varias capas de gasa y se depositó en un embudo de migración larvaria o aparato Baermann; posteriormente, se cubrió con agua tibia, para favorecer la migración de las larvas de los nematodos desde el interior del parénquima pulmonar al exterior de la gasa. Una vez que las larvas migran al agua, por gravedad caen a la parte inferior del embudo. Tras un periodo de 12 a 24 horas, se recogió el primer líquido en 2 tubos de 15 ml que se centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos para que las larvas se depositen en el fondo; a continuación, se eliminó el sobrenadante y las larvas se concentraron en un volumen de 2 ml que se examinó al microscopio (4x) en cámaras de Favatti

(Fig. 73); tras el recuento de las L-I, se calculó el número de larvas por gramo de tejido pulmonar (lpg).

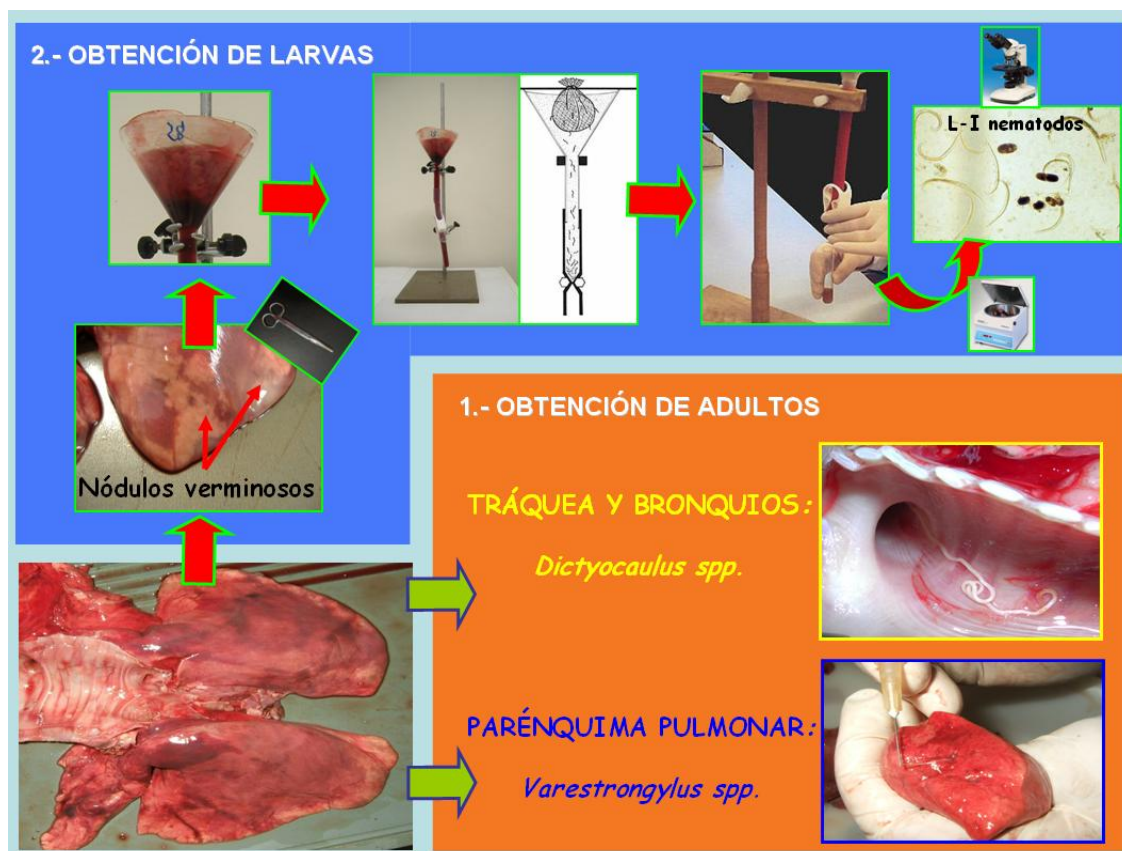


Figura 73.- Procesado del tracto respiratorio.

Las preparaciones permanentes de los ejemplares adultos y de las L-I se realizaron en lactofenol azul de algodón. Para su identificación se siguieron los criterios de Skrjabin *et al.* (1952), Skrjabin *et al.* (1971), Boev (1975), Carrillo *et al.* (1994) y Panadero *et al.* (2001).

3.3.1.2.- Obtención e identificación de nematodos gastrointestinales

En este caso se dispuso del tracto gastrointestinal de los 218 corzos y éste se dividió en cuatro partes: abomaso, intestino delgado, ciego e intestino grueso (Fig. 74).

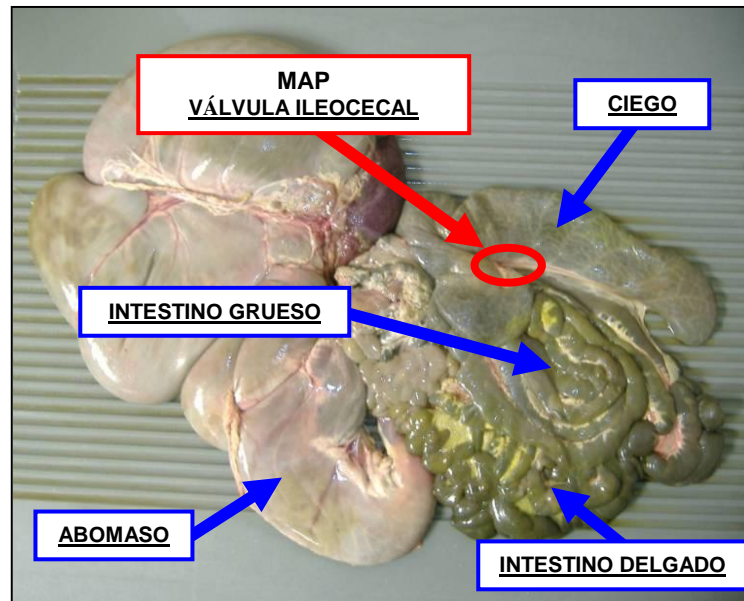


Figura 74.- Examen del aparato digestivo para el estudio de nematodos gastrointestinales y de *Mycobacterium avium paratuberculosis*.

Antes de proceder al procesado de los diferentes tramos, éstos se ligaron independientemente para asegurarnos de que las especies obtenidas pertenecían a cada una de las diferentes partes del tracto gastrointestinal. Una vez abiertos los diferentes tramos, su contenido se lavó con agua tibia a presión para desprender bien todos los vermes; a continuación, se filtró a través de tres tamices de 1500, 400 y 150 μm de diámetro de poro colocados en columna (Fig. 75).



Figura 75.- Tamices utilizados en la filtración del contenido del aparato digestivo.

Tras la filtración de cada una de las 4 partes del tracto gastrointestinal, el material retenido en los tamices, se depositó en las correspondientes copas de sedimentación y se guardó en recipientes de un litro de capacidad que se

conservaron en frascos numerados (Fig. 76), a los que se añadió formol al 5%. Al mismo tiempo un 10 % del material obtenido se conservó en etanol al 70% para estudios posteriores de biología molecular.

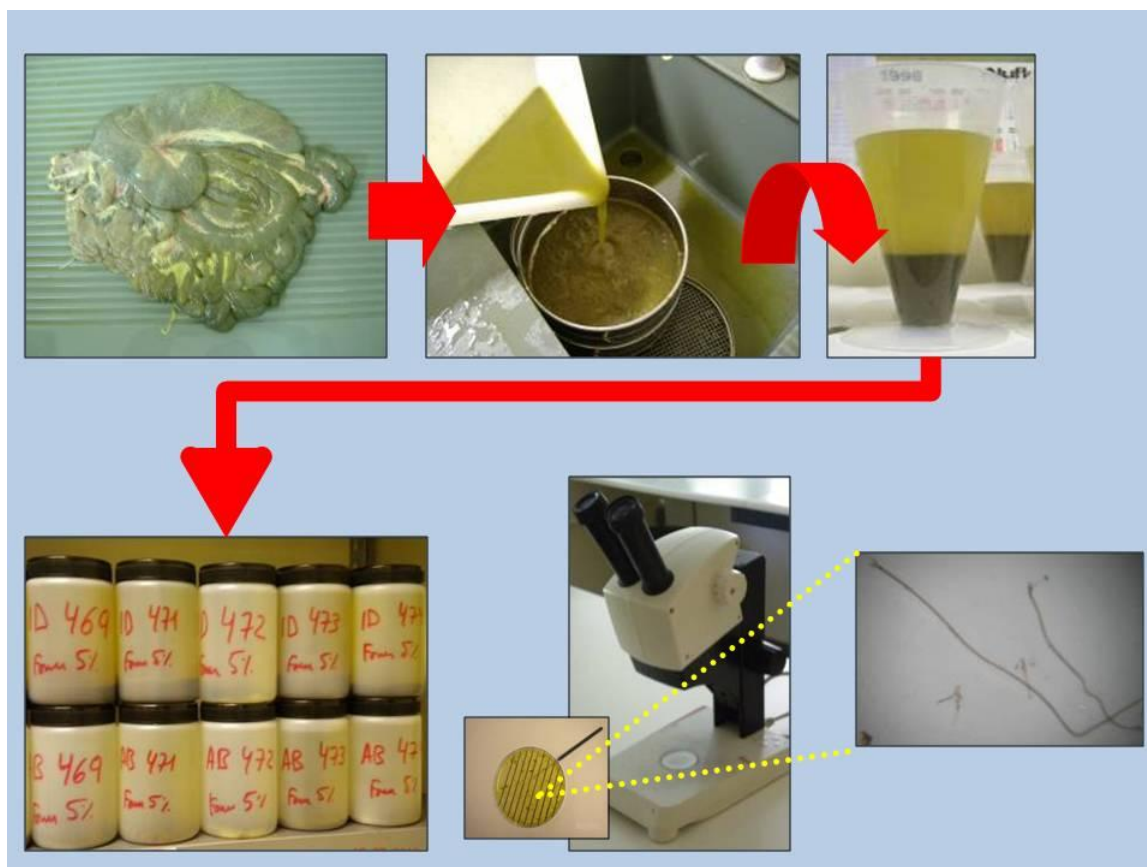


Figura 76.- Procesado del tracto gastrointestinal.

Posteriormente, para facilitar el examen de cada muestra, el contenido de los recipientes se examinó con un microscopio estereoscópico, en placas de Petri con fondo rayado y los adultos se extrajeron con una aguja entomológica. Además de contar los vermes presentes, estos se separaron según el sexo y se conservaron en etanol al 70% hasta su identificación morfológica.

El examen del contenido del ciego e intestino grueso se llevó a cabo de igual forma que el del abomaso e intestino delgado, aunque para extraer los adultos no fue necesario el empleo de la lupa debido a que los vermes tienen un tamaño suficiente para ser vistos a simple vista sobre un fondo oscuro.

Para proceder a su identificación, los ejemplares se montaron en preparaciones semipermanentes de lactofenol-azul de algodón al 0,05 % y se tuvieron en cuenta las descripciones de Skrjabin *et al.* (1954), Yamaguti (1961), Drózd (1965, 1966, 1967), Soulsby (1965), Fernández (1967), Jansen (1972), Rojo y Cordero del Campillo (1975), Durette-Desset y Chabaud (1981), Gibbons y Khalil (1982), Durette-Desset (1983, 1989), Quiroz (1984), Ferté (1987), Nogareda (1988), Díez Baños (1989), Rojo *et al.* (1997) y Meana y Rojo (1999).

3.3.2.- Agentes infecciosos

3.3.2.1.- Estudio de *Mycobacterium bovis*

Para determinar la infección por *Mycobacterium bovis* y las lesiones en parénquima pulmonar y/o nódulos linfáticos asociados, compatibles con este patógeno (Figura 71) se examinaron, 55 corzos, mediante dos técnicas diferentes (Fig. 77):

- 1.- Aislamiento y cultivo de *Mycobacterium bovis*.
- 2.- Tinción Ziehl-Neelsen de improntas de pulmón y ganglios.

El **aislamiento y cultivo de *Mycobacterium bovis*** se realizó principalmente a partir de pulmón y nódulos linfáticos mediastínicos. En siete corzos se procesaron, además, los nódulos linfáticos retrofaríngeos, ya que en los 48 restantes, y debido a las condiciones del estudio, este ganglio no estaba presente.

El procesado de las muestras se realizó en una cabina de bioseguridad para evitar contaminaciones bacterianas y fúngicas secundarias. El protocolo fue el siguiente:



Figura 77.- Procesado del tracto respiratorio para el estudio de *Mycobacterium bovis*.

1. Se exploró cuidadosamente la superficie del pulmón y nódulos linfáticos de cada animal con objeto de detectar lesiones compatibles con *M. bovis*, es decir, todas aquellas caseificaciones y/o zonas duras circunscritas y de cualquier color, excluyendo lesiones nodulares en los lóbulos diafragmáticos, típicas de infecciones por Protostrongídeos. En aquellos órganos sin lesiones se recogieron como mínimo 5 gramos de tejido pulmonar de al menos tres zonas diferentes para realizar el aislamiento bacteriano.
2. Se pesaron entre 2 y 4 gramos de cada muestra, previa decapsulación y eliminación de la grasa circundante en el caso de los nódulos linfáticos.

3. Se añadieron 40 ml de agua destilada estéril a cada una de las muestras individuales de ganglio y pulmón, que posteriormente se homogeneizaron en un Stomacher Lab Blender 80 durante 3-5 minutos.
4. Las muestras se dejaron reposar durante 30 minutos para permitir la formación de dos fases, siendo la inferior donde se deposita el material más grosero. Posteriormente, y con ayuda de una pipeta Pasteur estéril, se recogieron 5 ml y se dispensaron en tubos tipo Falcon de 50 ml.
5. Para evitar la contaminación del medio de cultivo durante el largo período de incubación, especialmente por hongos, éste se descontaminó mediante la adición de 5 ml de cloruro de hexadecilpiridinio (HPC al 0,35%) a cada una de las muestras. Tras dejar las muestras en reposo 20 minutos, se añadieron 15 ml de tampón fosfato en cada tubo.
6. Las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos.
7. Se retiró el sobrenadante y se añadió tampón fosfato hasta 25 ml, comprobándose que el pH estaba comprendido entre 7-7,5. Posteriormente se centrifugaron de nuevo las muestras y se desechó el sobrenadante.
8. Para el aislamiento de *M. bovis* se utilizaron los medios sólidos de Löwenstein-Jensen y de Coletsos (Biomérieux, España), ambos con piruvato, en tubos inclinados con tapa rosca. Empleando pipetas Pasteur estériles se tomaron 0,5 ml de sedimento, con el que se inocularon cuatro tubos (2 Löwenstein-Jensen y 2 Coletsos).
9. Los medios se incubaron a 37°C y permanecieron durante aproximadamente una semana en posición inclinada con los tapones de rosca aflojados con objeto de eliminar la humedad de la superficie. Pasado este período, los medios se colocaron en posición vertical y se apretaron los tapones, manteniendo la temperatura de incubación. El período de incubación fue de 8 semanas y los medios se examinaron de

Finalmente, los portaobjetos se dejaron secar al aire y se fijaron al calor suavemente. Para realizar la tinción se utilizó el kit rápido Ziehl-Neelsen FITE (Bio-Optica, Milán, Italia). Todas las muestras se examinaron con un microscopio óptico Olympus CH2 a 1250 aumentos.

3.3.2.2.- Estudio de *Mycobacterium avium paratuberculosis*

Para detectar la presencia de *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) y de lesiones compatibles con este patógeno (Fig. 74), se realizaron tres técnicas diferentes en 64 corzos (Fig. 79):

- Aislamiento y cultivo de MAP
- Tinción Ziehl-Neelsen de improntas de válvula ileocecal
- Estudio histopatológico



Figura 79.- Procesado de la válvula ileocecal para el estudio de MAP.

El **aislamiento y cultivo de MAP** se realizó a partir de la válvula ileocecal de cada animal, en una cabina de bioseguridad para evitar contaminaciones bacterianas y fúngicas secundarias. El protocolo se llevó a cabo de la siguiente forma:

1. Se anotaron, de ser el caso, la presencia de lesiones compatibles con MAP en la válvula ileocecal como caseificaciones y/o zonas que presentaran una mayor consistencia. Tras ello, se pesaron 2 gramos de cada muestra de tejido intestinal, que se depositaron en una bolsa Stomacher.
2. Se añadieron 10 ml de agua destilada a cada una de las muestras individuales y se homogeneizaron en un Stomacher Lab Blender 80 (Seward Medical, RU) durante 5-10 minutos.
3. Para evitar la contaminación del medio de cultivo durante el largo período de incubación, especialmente por hongos, el medio se descontaminó mediante la adición de 35 ml de cloruro de hexadecilpiridinio (HPC al 0,9%) a cada una de las muestras.
4. Las muestras se homogeneizaron de nuevo en el Stomacher durante 2 minutos, y se dejaron reposar 30 minutos. Posteriormente con ayuda de una pipeta Pasteur estéril se desechó el sobrenadante.
5. Se dejaron reposar las muestras entre 18 y 24 horas a temperatura ambiente para permitir la formación de dos fases, siendo la inferior donde se depositaba el material más grosero.
6. Para el aislamiento de MAP se utilizó el medio de yema de huevo Herrold (HEYM) con y sin micobactina J (Becton Dickinson, Nueva Jersey, EE.UU.) en tubos de agar inclinado con tapa rosca.
7. Empleando pipetas Pasteur estériles se tomaron muestras del sedimento obtenido en el paso 5, con el que se inocularon cuatro tubos,

tres de los cuales con micobactina. Con objeto de estudiar la presencia de cepas micobactina-dependientes, uno de los tubos contenía medio de cultivo sin micobactina J.

8. Los medios se incubaron a 37°C y permanecieron en posición inclinada durante aproximadamente una semana con los tapones de rosca aflojados con objeto de eliminar la humedad de la superficie. Posteriormente, los medios se colocaron en posición vertical y se apretaron los tapones, manteniendo la temperatura de incubación. El período de incubación fue de 18 semanas y los medios se examinaron de manera periódica en busca de crecimiento bacteriano. Para la lectura de los crecimientos se empleó la tabla incluida en la Figura 80.

CONTROL AISLAMIENTO MICOBACTERIAS (paratuberculosis)														
MUESTRA N°	LESIONES MACROSCOPICAS	FECHA SIEMBRA	ZIEHL-NEELSEN		CONTROL CRECIMIENTO									
			+	-	1 semana	2-3 semanas	4 semanas	5-6 semanas	7-8 semanas	9 semanas	10 semanas	11-12 semanas	13-14 semanas	15 semanas

Figura 80.- Tabla empleada para realizar la lectura de los cultivos bacterianos.

También se realizó una **tinción diferencial de improntas** de válvula ileocecal con la técnica **Ziehl-Neelsen**, que permite identificar microorganismos con propiedades ácido-alcohol resistentes (bacilos ácido-alcohol resistentes, BAAR+), que adquieren un fuerte color rojo. Se realizaron tres improntas por cada muestra individual. En el caso de que el tejido presentase lesiones, todas las improntas se realizarían empleando zonas parcialmente afectadas. En caso

contrario, se utilizaron fragmentos pertenecientes a tres localizaciones diferentes de la válvula ileocecal.

Finalmente, los portaobjetos se dejaron secar al aire y se fijaron al calor suavemente. Para realizar la tinción se utilizó el kit rápido Ziehl-Neelsen FITE (Bio-Optica, Milán, Italia), cuyo protocolo se resume en la Tabla 4. Todas las muestras se observaron con un microscopio óptico Olympus CH2 a 1250 aumentos.

Para el **análisis histopatológico** de cada válvula ileocecal, las muestras se fijaron en formol tamponado al 10% durante 24 horas. Tras el tallado de las mismas, se introdujeron en un procesador automático de tejidos, donde se deshidrataron mediante pases sucesivos en gradientes crecientes de etanol. A continuación se pasaron a xilol y finalmente se incluyeron en parafina líquida (51-53°C). Las muestras se cortaron con un microtomo Microm HM-310, obteniendo secciones de 4 µm de grosor, que se tiñeron con la técnica de Ziehl-Neelsen de acuerdo al protocolo señalado en la Tabla 4. La valoración de las muestras (infiltraciones masivas de bacterias ácido-alcohol-resistentes y células inflamatorias en la mucosa intestinal junto con atrofia y fusión de las vellosidades intestinales) se realizó mediante observación al microscopio a 400 aumentos.

3.3.2.3.- Seroprevalencia de pestivirus

Se empleó un ELISA comercial de competición (SERELYSA[®] BVD/BD p80 Ab Mono Blocking, Synbiotics, Lyon, Francia) que se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Para el estudio de la seroprevalencia frente a pestivirus se llevó a cabo un análisis serológico de 175 corzos. Este test detecta específicamente anticuerpos dirigidos contra una proteína (p80/125) común a todas las cepas de VDVB y VEF. Los anticuerpos son resultado de la multiplicación del virus introducido tras una infección natural o la vacunación con virus vivos. El principio del ELISA se describe en los siguientes pasos:

1. Previamente se diluyen las muestras al 1/5 en una microplaca de dilución. Tras ello, los sueros prediluidos se colocan en los pocillos sensibilizados con la proteína p80/125 DVB/EF. Los anticuerpos Anti-DVB/EF p80/125 presentes en la muestra se unen específicamente a los recubiertos de antígeno de los pocillos.

2. Después de una etapa de lavado se añade un anticuerpo monoclonal p80/125 anti-BVD/BD conjugado con peroxidasa. Este se fija en los lugares antigénicamente libres formándose un complejo: (Ag)-(anti-DVB/EF p80/125/peroxidasa).

3. El exceso de conjugado se elimina mediante un paso de lavado. La enzima conjugada con el complejo se revela por la adición de un sustrato que lo transforma en un producto coloreado. Las densidades óptica correspondientes son leídas e interpretados con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm de la siguiente manera:
 - En ausencia de anticuerpos en la muestra, se observa una intensa coloración debida a la transformación de la enzima conjugada unida a los antígenos fijados a la fase sólida.

 - En presencia de anticuerpos en la muestra, menor cantidad de enzima conjugada se habrá unido a los sitios antigénicos fijados a la fase sólida y por tanto la intensidad de color disminuirá.

Los **criterios de validación** fueron los siguientes:

El test es validado si:

- La densidad óptica (DO) del control negativo (DO_N) es mayor o igual que 0.500.

$$DO_N \geq 0.500$$

- El porcentaje de competencia del control positivo (DO_P) es mayor o igual al 70%. Este porcentaje se calcula de la siguiente manera:

$$\%P = \frac{\overline{DO}_N - \overline{DO}_P}{\overline{DO}_N} \times 100$$

\overline{DO} : Densidad óptica media

Se calcularon los punto de corte (PC) de las DO correspondientes al 20% y 40% de competencia como indica el fabricante.

$$\begin{aligned} DO_{PC\ 20} &= 0,80 \overline{DO}_N + 0,20 \overline{DO}_P \\ DO_{PC\ 40} &= 0,60 \overline{DO}_N + 0,40 \overline{DO}_P \end{aligned}$$

Para la **interpretación de los resultados** las muestras se clasificaron de la siguiente manera al considerar sus densidades ópticas:

$DO_{MUESTRA} \leq DO_{PC\ 40}$	<u>POSITIVA</u>
$DO_{PC\ 40} < DO_{MUESTRA} < DO_{PC\ 20}$	<u>DUDOSA</u>
$DO_{MUESTRA} > DO_{PC\ 20}$	<u>NEGATIVA</u>

Para las que resultaron dudosas se realizó la prueba por segunda vez considerándose este último resultado como el definitivo.

3.4.- Análisis estadísticos

Los datos obtenidos en este estudio se procesaron con ayuda de la hoja de cálculo Microsoft Excel 2007 y su análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico PASW Statistics para Windows, versión 18.0.

En el apartado de estadística descriptiva, se empleó la **media** como indicador de tendencia, y la **desviación estándar** y los valores **máximo y mínimo** como medidas de dispersión.

Se empleó el test **Chi-cuadrado** para constatar la posible existencia de diferencias estadísticamente significativas, respecto al porcentaje de infección de los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales y pulmonares, al tener en cuenta tanto su localización en los diferentes tramos intestinales como otros parámetros considerados (zona, edad y sexo).

Además, para analizar la existencia de diferencias significativas entre el porcentaje de infección por nematodos gastrointestinales, en los cuatro tramos intestinales estudiados (abomaso, intestino delgado, ciego e intestino grueso), se empleó un **CHAID exhaustivo** (exhaustive Chi-squared Automatic Interaction Detector) que es un árbol de clasificación realizado mediante minería de datos. El CHAID identifica variables que permiten clasificar a los animales en subgrupos con distintos patrones de positividad. Empleando como criterio de discriminación la significación del test Chi-cuadrado, el CHAID evalúa todos los valores de un posible factor potencial, seleccionando la mejor variable predictora para formar la primera rama del árbol de clasificación. Posteriormente, el conjunto de datos se continúa dividiendo en nodos homogéneos en relación a la variable dependiente. Este proceso continúa hasta que el árbol de clasificación se construye completamente. El método es exhaustivo porque después de emplear un factor en el análisis, éste permanece en la lista de variables predictoras para su uso en futuros cálculos. El CHAID no restringe el número de ramas que pueden surgir de cada nodo a un número predeterminado, por lo que puede dividirse en más de dos ramas.

Asimismo, para determinar si existían diferencias significativas respecto a la intensidad de infección se utilizó el **análisis de la varianza (ANOVA)**. Debido a que la carga parasitaria de los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales y pulmonares no se ajustaba a una distribución normal, se llevó a cabo una transformación logarítmica ($\ln(x+1)$) de cada valor individual previamente a la realización del análisis estadístico. En todas las pruebas estadísticas utilizadas se tomó un nivel de significación de 0,05.

Para analizar la posible relación entre las variables estimadas (zona, edad y sexo) y los resultados obtenidos, se realizaron tablas de contingencia de 2 entradas, con las que se calculó el **odds ratio (OR)** (Thrusfield, 1995).

		Infección		
		Sí	No	
Exposición	Sí	a	b	a + b
	No	c	d	c + d
		a + c	b + d	

$$OR = \frac{\frac{a}{b}}{\frac{c}{d}}$$

Crterios de interpretación del odds ratio

- **OR > 1 y límite inferior del IC 95% > 1:** la variable considerada se considera un factor de riesgo para la infección del animal.
- **OR < 1 y límite superior del IC 95% > 1:** la variable estudiada se considera un factor de protección frente a la infección.
- **OR = 1 y/o IC 95% comprende la unidad:** no se puede establecer relación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Agentes parasitarios

4.1.1. Prevalencia e intensidad de infección por nematodos broncopulmonares

Debido a que los adultos de Protostrongylidae están albergados profundamente en el parénquima pulmonar, la mayoría de los trabajos como sucede en este estudio, se refieren no solo a la observación de los adultos, si no también a la de **larvas en tejido pulmonar o en heces**.

En el 43% de los corzos hallamos adultos y/o larvas de estos nematodos. El número de adultos osciló entre 1 y 62 ($\bar{x}=15,3\pm 17,2$) y el número de larvas por gramo de pulmón (lpg) osciló entre 0,03 y 88 ($\bar{x}=5,4\pm 11,8$), siendo estos resultados similares a los hallados por nosotros (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010) en estudios previos realizados en corzos abatidos en diferentes localidades gallegas.

4.1.1.1. Según su localización en el aparato respiratorio

Tras la extracción de los adultos y la realización de las correspondientes migraciones larvianas, se hallaron adultos y/o larvas de Dictyocaulidae y de Protostrongylidae en el 23 y 37%, de los corzos examinados, respectivamente.

Con la técnica de migración larvaria se obtuvieron huevos y larvas de nematodos broncopulmonares (Foto 1).

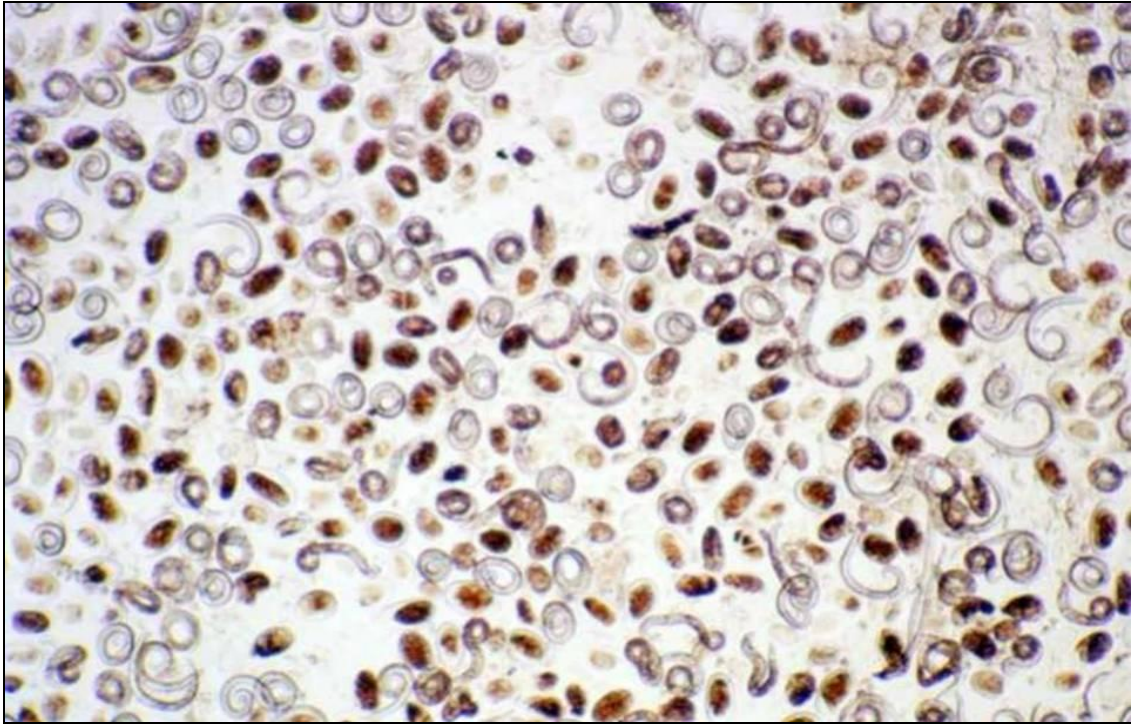


Foto 1.- Huevos y larvas de primer estadio de *Dictyocaulus* spp. y *Vastrestrongylus* spp. obtenidas de tejido pulmonar.

Posteriormente, las larvas se identificaron de acuerdo con Carrillo *et al.* (1994, 1995) y Panadero *et al.* (2001) como de *Dictyocaulus noerneri* (= *D. eckerti*) y de *Vastrestrongylus capreoli* (Foto 2 a, b).

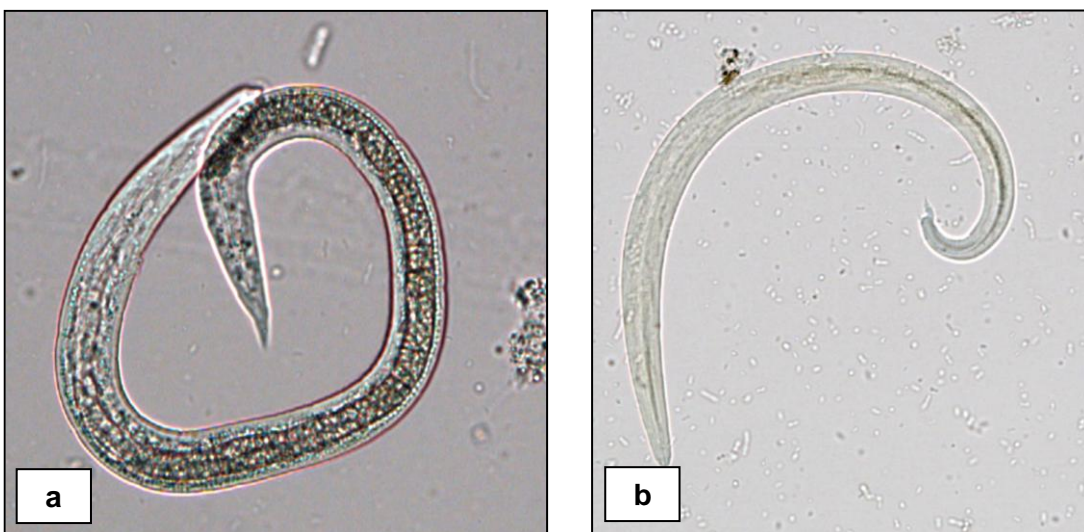


Foto 2.- Larvas de primer estadio de *Dictyocaulus noerneri* (= *D. eckerti*) (a) y de *Vastrestrongylus capreoli* (b).

4.1.1.1.1. En tráquea y bronquios

Después de examinar la tráquea y las ramificaciones bronquiales (Foto 3), hallamos adultos de *Dictyocaulus* en el 11,4% de los animales, siendo esta prevalencia similar a la señalada por otros autores (Kazlauskas y Puzauskas, 1974; Hugonnet y Cabaret, 1987; Borgsteede *et al.*, 1990; Divina *et al.*, 2002 y Shimalov y Shimalov, 2003) en corzos abatidos en diferentes países europeos.

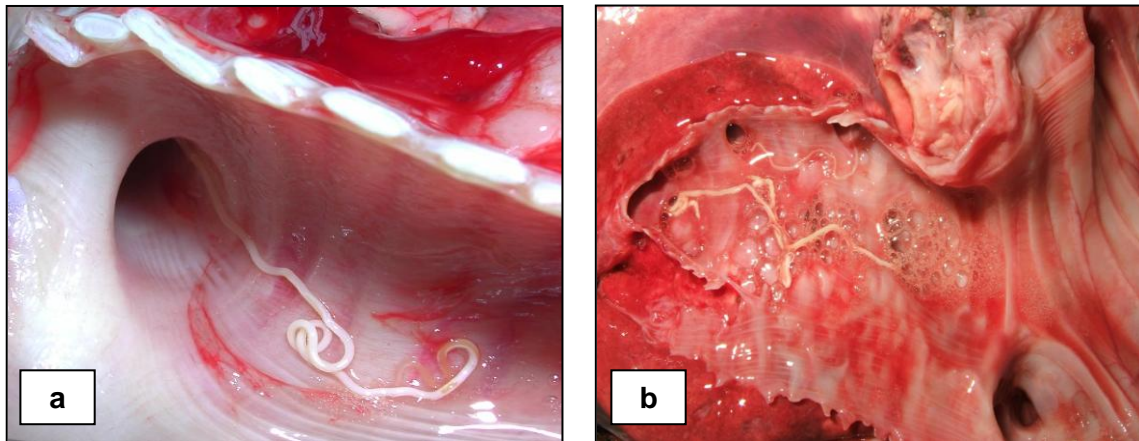


Foto 3.- Adultos de *Dictyocaulus* localizados en tráquea (a) y bronquios (b).

Basándonos en las descripciones de Carrillo *et al.* (1994, 1995) y Panadero *et al.* (2001), los adultos se identificaron (Foto 4) como *Dictyocaulus noerneri* (= *D. eckerti*).

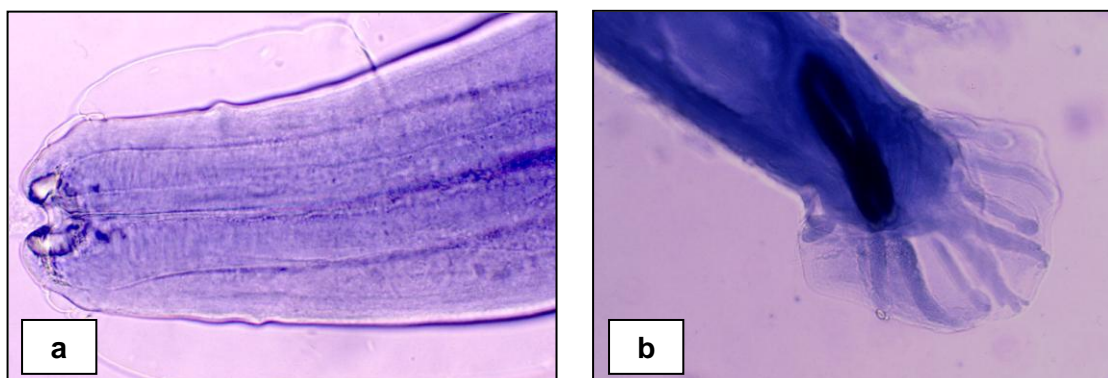


Foto 4.- Extremos cefálico (a) y caudal (b) de *D. noerneri* (= *D. eckerti*).

Además, en el presente estudio observamos que la intensidad de parasitación media por adultos de *Dictyocaulus* fue de $15,3 \pm 17,2$ ejemplares por animal; esta intensidad, así como, la prevalencia de infección fue similar a la observada por Díez-Baños *et al.* (1995) y Panadero *et al.* (2001) en corzos abatidos en diferentes áreas de la provincia de Lugo.

Tras realizar las correspondientes migraciones del tejido pulmonar, comprobamos que en el 21,4% de los corzos se hallaron L-I de *Dictyocaulus*, con una media de $4,2 \pm 10,7$ lpg; siendo estos resultados similares a los obtenidos en estudios previos (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010) en los que se analizaron corzos procedentes de diferentes localidades gallegas.

4.1.1.1.2. En parénquima pulmonar

En el 90 % de los corzos estudiados se hallaron lesiones macroscópicas en la superficie del pulmón, especialmente en el borde del lóbulo caudal, compatibles con la infección por protostrongílidos del género *Varestrongylus* (Foto 5 a). La distribución e intensidad de las lesiones fue similar a la hallada en estudios previos realizados por Carrillo *et al.* (1994, 1995) y Panadero *et al.* (2001).

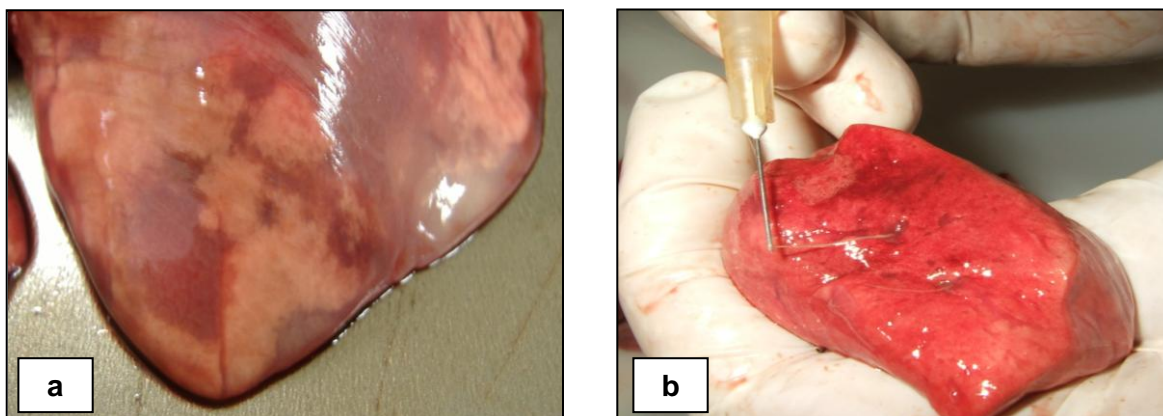


Foto 5.- Lesiones en el lóbulo caudal compatibles con la infección por protostrongílidos (a). Extracción de un adulto del parénquima pulmonar (b).

Tras la disección del parénquima pulmonar de todos los corzos, solo logramos extraer un pequeño número de adultos (Foto 5 b) que, de acuerdo con Carrillo *et al.* (1995) y Panadero *et al.* (2001), se identificaron como *Varestrongylus capreoli* (Foto 6).



Foto 6.- Espículas y gubernáculo características de *Varestrongylus capreoli*.

Mediante migración larvaria del tejido pulmonar, comprobamos que el 37,3% de los animales albergaban L-I de *Varestrongylus capreoli*, siendo las cifras medias de larvas por gramo de pulmón muy bajas ($3,7 \pm 7,3$ lpg), resultando esta intensidad de infección sensiblemente menor que la obtenida previamente por Carrillo *et al.* (1995) y Panadero *et al.* (2001) en corzos abatidos en la década de los 90; por el contrario, son similares a las halladas posteriormente en otros trabajos efectuados en los últimos años (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010).

4.1.1.1.3. Distribución de las especies en los distintos tramos del tracto respiratorio

Solo se hallaron 2 especies en el aparato respiratorio de los animales estudiados, *Dictyocaulus noeneri* (23%) y *Varestrongylus capreoli* (37%) (Figura 81) existiendo diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de ambas ($\chi^2= 9,417$; $p<0,002$). Estas dos especies ya habían sido descritas anteriormente en corzos de Galicia por Carrillo *et al.* (1994, 1995) y Panadero *et al.* (2001); asimismo, Dróždš *et al.* (1992) y Jansen (1992) las identificaron en corzos abatidos en Polonia y Holanda, respectivamente.

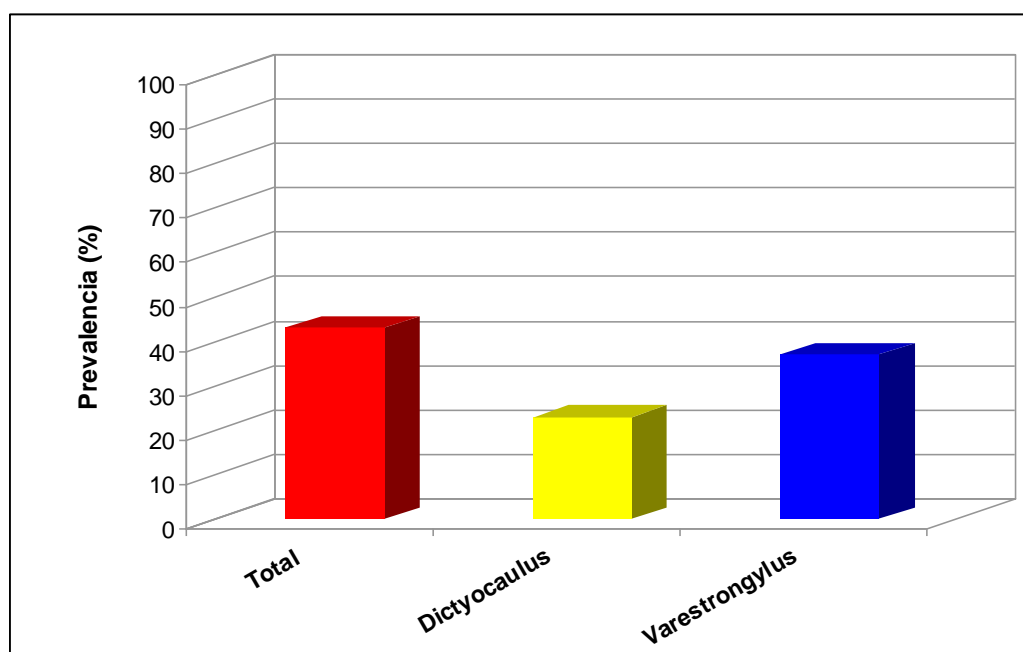


Figura 81.- Prevalencia de infección por nematodos broncopulmonares.

La prevalencia de *Dictyocaulus noeneri* fue ligeramente superior a la observada (18,2%) por Panadero *et al.* (2001) en corzos abatidos en Galicia; así como, a la observada en corzos de Suecia (14,7%) por Divina *et al.* (2002).

Por el contrario, la prevalencia de *V. capreoli* observada por nosotros fue sensiblemente inferior a la obtenida (62%) hace una década por Panadero *et al.* (2001) en corzos abatidos en la provincia de Lugo.

En análisis coprológicos, en la República Checa, Tomanek (1967) señaló un porcentaje de infección (78%) por *Varestrongylus capreoli* muy superior al observado por nosotros; asimismo, en Polonia, Kozakiewicz *et al.* (1986) Demiaszkiewicz *et al.* (1987) y Dróždš (1992) también observaron prevalencias de infección superiores (53,3%; 44% y 83,3%, respectivamente); por el contrario, en este país, Misiewicz y Demiaszkiewicz (1993), Misiewicz (1994) y Cisek *et al.* (2003) señalaron porcentajes de infección (25%; 36,4% y 40,5%) similares a los nuestros.

En España, en la provincia de Zamora Hidalgo *et al.* (1999) hallaron que el 27% de los corzos estaban infectados por *V. capreoli*; además, estos últimos autores señalaron que las cifras medias de eliminación eran bajas (7,5).

Hay que destacar que, a pesar de la abundancia de *Muellerius capillaris* en los pequeños rumiantes domésticos, esta especie no se ha identificado en corzos abatidos en Galicia, si bien Navarrete *et al.* (1990) y Reina *et al.* (1992) observaron prevalencias del 16% y 25% para este protostrongílido en corzos de la provincia de Córdoba y Cáceres, respectivamente.

En la Tabla 5, se especifica el rango y la intensidad de infección de cada una de las especies halladas. El número de larvas de *D. noeneri* por gramo de pulmón fue superior al de *V. capreoli*, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($F= 0,980$; $p= 0,324$).

		MEDIA	RANGO
Dictyocaulus	Adultos	15,3±17,2	1-62
	Larvas	4,2±10,7	0,06-69,4
Varestrongylus	Larvas	3,7±7,3	0,03-33,6

Tabla 5.- Intensidad y rango de infección de los diferentes nematodos broncopulmonares.

En la Figura 82 se muestran los porcentajes de animales infectados según el número de especies de nematodos halladas en su aparato respiratorio; las infecciones monoespecíficas fueron las más frecuentes, predominando los animales infectados únicamente por *V. capreoli*.

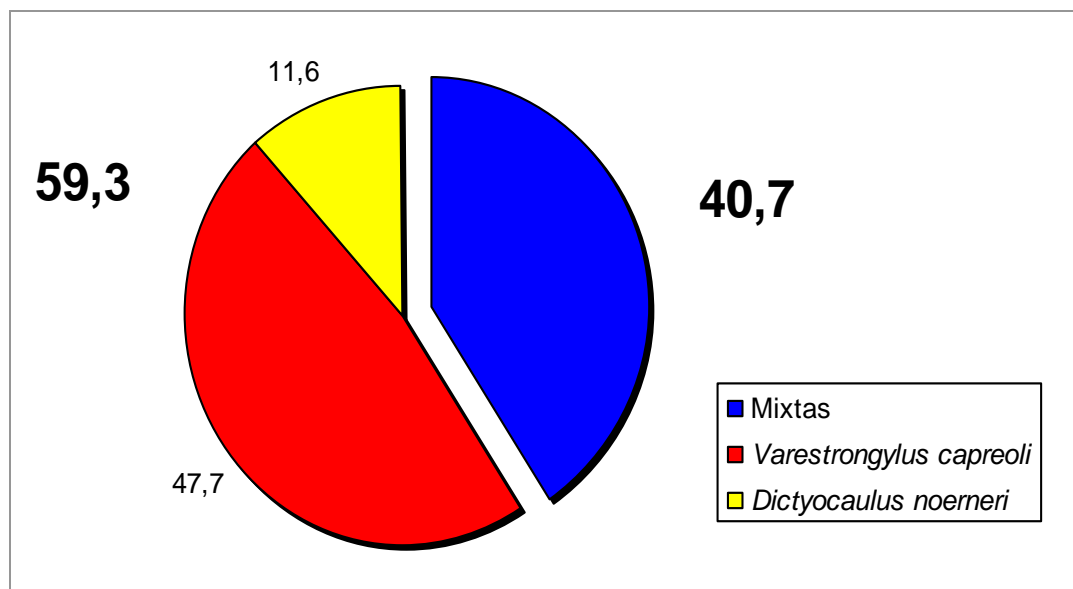


Figura 82.- Prevalencia de infección según las asociaciones específicas.

4.1.1.2. Al considerar la zona de procedencia de los corzos

Al relacionar el porcentaje de infección por larvas de nematodos broncopulmonares con la zona de procedencia de los animales, se observó que era superior en el Centro y la Montaña; no obstante, con Chi-cuadrado se constató que estas diferencias no eran significativas.

Al relacionar los porcentajes de los diferentes géneros hallados con las zonas de procedencia de los corzos (Tabla 6) se observó que la prevalencia de *Dictyocaulus* fue superior en los animales del Centro; por el contrario, la de *Varestrostrongylus* fue mayor en los corzos de la Montaña. No obstante, con la prueba Chi-cuadrado se comprobó que no existían diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los géneros. Además, los

valores de OR indican que no existe mayor riesgo de infección por una u otra especie.

	COSTA		CENTRO		MONTAÑA	
	%	OR	%	OR	%	OR
TOTAL	31,0	-	40,0	-	53,1	-
<i>Dictyocaulus</i>	14,3	0,5 (0,2-1,2)	28,4	1,7 (0,9-3,3)	21,5	0,9 (0,4-1,7)
<i>Varestrongylus</i>	26,2	0,5 (0,2-1,1)	35,8	0,9 (0,5-1,6)	46,9	1,8 (0,9-3,3)

Tabla 6.- Prevalencia y valores *odds-ratio* al considerar la zona de procedencia de los corzos.

En la Tabla 7, se aprecia que las cifras medias de larvas por gramo de pulmón, tanto de *Dictyocaulus* como de *Varestrongylus*, fueron muy bajas en los corzos abatidos en las diferentes zonas; con ANOVA, se constató que estas diferencias no eran significativas. Estos resultados son similares a los hallados en corzos abatidos en la última década en Galicia (Díez-Baños *et al.*, 2008; Pato *et al.*, 2009 b y Dacal *et al.*, 2010), pero son sensiblemente inferiores a las cifras medias de lpg de nematodos broncopulmonares halladas, en corzos sacrificados en los años 90 en diferentes localidades gallegas, por Carrillo *et al.* (1994, 1995) y Panadero *et al.* (2001).

	COSTA	CENTRO	MONTAÑA
TOTAL	5±9	6±9	5±15
<i>Dictyocaulus</i>	2±2	3±3	7±19
<i>Varestrongylus</i>	5±9	5±9	2±5

Tabla 7.- Cifras medias de lpg de nematodos broncopulmonares según la zona de procedencia de los corzos.

En el presente estudio, no hemos observado unas diferencias claras entre el porcentaje e intensidad de infección por nematodos bronopulmonares y la zona de procedencia de los corzos, lo que difiere, en parte, con lo observado por Panadero *et al.* (2001) quienes señalaron que, las diferencias edafoclimáticas que existen entre las áreas edafoclimáticas en Galicia afectan

a la supervivencia en el medio de las larvas de *D. noeneri* y a la presencia de moluscos que actúan como hospedadores intermediarios de *V. capreoli*.

4.1.1.3. Al tener en cuenta la edad de los animales

Al relacionar el porcentaje de infección por larvas de nematodos broncopulmonares con la edad de los animales, se observó que era similar en los jóvenes y en los adultos; constatándose con Chi-cuadrado que estas diferencias no eran significativas.

La prevalencia de infección por larvas de *Dictyocaulus* (Tabla 8) fue superior en los corzos más jóvenes, lo que coincide con lo observado en estudios previos (Diez Baños *et al.*, 2008; Pato, 2009 y Dacal *et al.*, 2010) en corzos abatidos en diferentes localidades gallegas. Además, según diversos autores (Morrondo *et al.*, 1978; Soulsby, 1985; Diez Baños *et al.*, 1999) en los rumiantes domésticos la inmunidad adquirida frente a *Dictyocaulus* puede provocar dos efectos, generar resistencia contra la reinfección y afectar a la tasa de mortalidad de las larvas en desarrollo.

	JÓVENES		ADULTOS	
	%	OR	%	OR
TOTAL	44,8	-	41,9	-
<i>Dictyocaulus</i>	34,5	1,9 (0,8-4,5)	21,4	0,5 (0,2-1,2)
<i>Varestrongylus</i>	37,9	1 (0,4-2,3)	37,2	0,9 (0,4-2,1)

Tabla 8.- Prevalencia de los diferentes géneros y valores “odds-ratio” al considerar la edad de los corzos.

Por el contrario, el porcentaje de infección por larvas de *Varestrongylus* fue similar en ambos grupos de edad, lo que coincide con lo observado en estudios previos (Diez Baños *et al.*, 2008; Pato, 2009 y Dacal *et al.*, 2010) en los que habíamos observado que el porcentaje de infección por larvas de *Varestrongylus* era ligeramente superior en los corzos más jóvenes.

Respecto a las cifras medias de larvas por gramo de pulmón (Tabla 9), fueron superiores en los animales jóvenes, aunque con ANOVA únicamente se constataron diferencias significativas para en el caso de las larvas de *Dictyocaulus* ($F= 5,150$; $p= 0,029$). En general, estos resultados coinciden con los hallados en estudios previos (Diez Baños *et al.*, 2008; Pato, 2009 y Dacal *et al.*, 2010) en corzos abatidos en diferentes localidades gallegas, en los que habíamos observado que los corzos de menor edad eliminaban cifras ligeramente superiores a las halladas en los adultos.

	JOVENES	ADULTOS
TOTAL	13±24	4±7
<i>Dictyocaulus</i>	12±24	2±3
<i>Varestrongylus</i>	6±10	3±7

Tabla 9.- Cifras medias de Ipg de nematodos broncopulmonares según la edad de los corzos.

Estos resultados difieren, parcialmente, de los hallados por diversos autores en ganado ovino explotado en el Noroeste de España (Morrondo *et al.*, 1978, 1991; Diez *et al.*, 1989; Martínez *et al.*, 1989; Cienfuegos *et al.*, 2007), quienes observaron que la excreción de L-I de Protostrongylidae se incrementaba con la edad de los animales; según estos autores, debido a la falta de inmunidad que caracteriza a las infecciones por protostrongílidos, para que el número de larvas que excreten los animales sea elevado es necesario que los animales hayan salido a los pastos dos o más temporadas; no obstante, debemos señalar que, en el presente estudio, los corzos más jóvenes ya habían pastado durante 2 temporadas. Además, hay que tener en cuenta que la prevalencia e intensidad de eliminación varía según las especies de Protostrongylidae; en este sentido, Reguera *et al.* (1979, 1996) observaron que la prevalencia y las cifras de eliminación de *Cystocaulus ocreatus* eran similares en los animales jóvenes y en los adultos, mientras que el porcentaje de ovinos que eliminaban L-I de *Muellerius capillaris* y *Neoststrongylus linearis* era superior en los de mayor edad.

4.1.1.4. Según el sexo de los corzos

El porcentaje de infección por larvas de nematodos broncopulmonares fue superior en los machos; constatándose con Chi-cuadrado que estas diferencias eran significativas ($X^2= 6,478$; $p=0,011$).

Al relacionar los porcentajes de los 2 géneros hallados (Tabla 10) con el sexo de los animales, se observó que la prevalencia de ambos era superior en los machos; sin embargo, con Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias eran únicamente significativas para *Varestrongylus* ($X^2= 5,437$; $p=0,016$). Además, los valores *odds-ratio* indican que los machos tienen un mayor riesgo de infección por este protostrongílido.

	MACHOS		HEMBRAS	
	%	OR	%	OR
TOTAL	45,9	-	20,7	-
<i>Dictyocaulus</i>	24,9	2 (0,7-6,2)	13,8	0,5 (0,2-1,5)
<i>Varestrongylus</i>	40,7	3,3* (1,2-9)	17,2	0,3* (0,1-0,8)

Tabla 10.- Prevalencia y valores *odds-ratio* al considerar el sexo de los corzos.

El que exista mayor prevalencia y riesgo de infección en los machos podría deberse a las diferencias de comportamiento y fisiológicas que hay entre ambos sexos.

	MACHOS	HEMBRAS
TOTAL	5±8	16±35
<i>Dictyocaulus</i>	3±3	26±38
<i>Varestrongylus</i>	4±7	4±8

Tabla 11.- Intensidad de parasitación al considerar el sexo de los animales.

Por el contrario, en las hembras se observó cifras medias más elevadas de larvas de nematodos broncopulmonares por gramo de pulmón,

especialmente de *Dictyocaulus* (Tabla 11); no obstante, con ANOVA se constató que estas diferencias eran significativas ($F= 9,002$; $p=0,005$) únicamente para este nematodo de ciclo directo.

4.1.2.- Prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales.

Todos los corzos estudiados estaban parasitados por nematodos gastrointestinales y su número osciló entre 3 y 10.072 ($\bar{x} = 1070 \pm 1020$). De los 217.786 adultos recuperados, 127.140 eran hembras y 90.646 machos, siendo la relación hembra/macho de 1,4; siendo estos resultados muy similares a los hallados por nosotros (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2009 a, c y 2011 a, b) en estudios previos realizados en corzos abatidos en diferentes localidades gallegas. Además, en general, coinciden con los señalados por Díez-Baños *et al.* (1992b) en ganado ovino sacrificado en León, quienes observaron que de los 160.814 vermes, la mayoría (96.867) eran hembras, siendo la relación de 1,5. Asimismo, en ovejas sacrificadas en la provincia de Murcia y en ciervos abatidos en la provincia de León, Garijo *et al.* (2009) e Hidalgo *et al.* (2010), respectivamente, comprobaron que las hembras eran más abundantes que los machos.

4.1.2.1. Según su localización en el aparato digestivo

La prevalencia e intensidad de infección varió en los diferentes tramos del aparato digestivo (Figura 83), siendo en abomaso e intestino delgado donde se obtuvo el mayor porcentaje de infección.

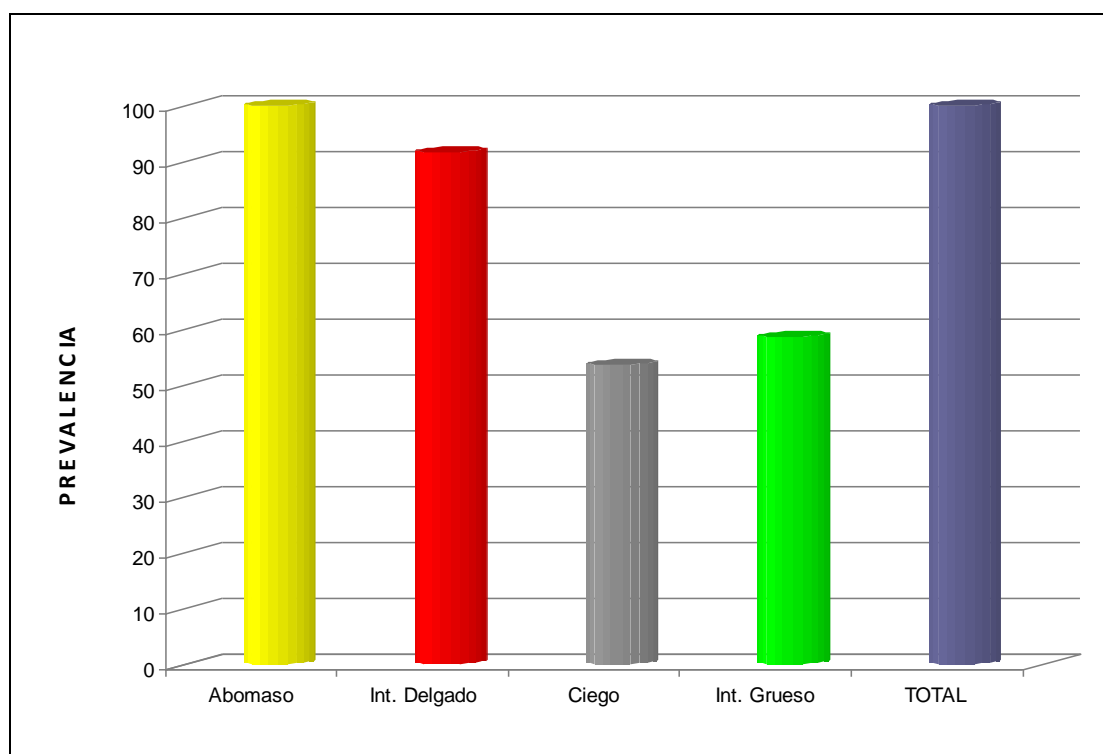


Figura 83.- Prevalencia de infección por nematodos gastrointestinales en los diferentes tramos del aparato digestivo.

El test CHAID exhaustivo demostró que existían diferencias significativas entre las prevalencias de infección por nematodos en los distintos tramos del aparato digestivo ($X^2 = 189,967$; $p < 0,001$).

El análisis del árbol de clasificación (Figura 84) mostró que los porcentajes de infección hallados en abomaso, intestino delgado y en el conjunto ciego-intestino grueso eran significativamente diferentes entre sí.

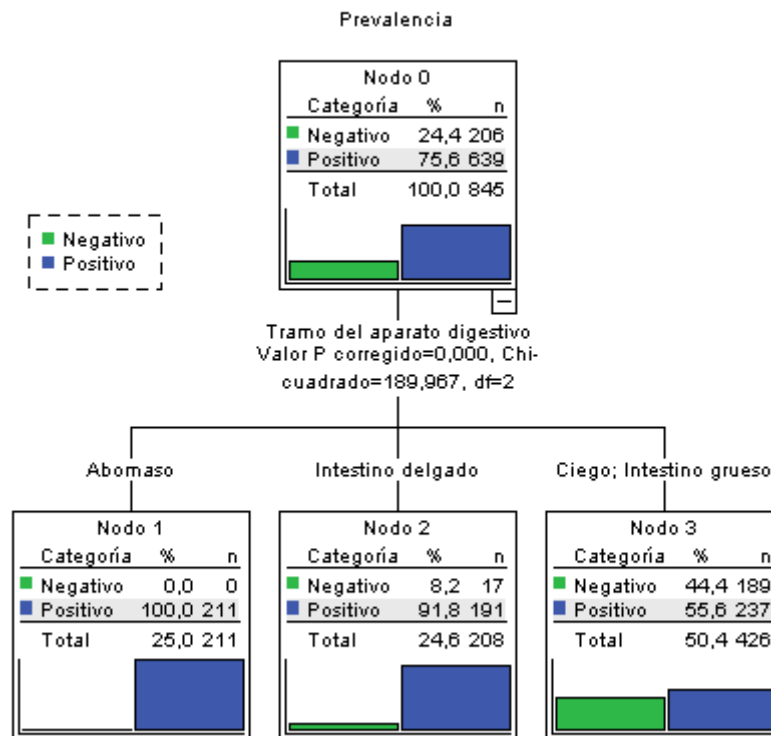


Figura 84.- Árbol de clasificación de prevalencias por nematodos gastrointestinales al tener en cuenta el tramo del aparato digestivo.

La elevada prevalencia de infección por nematodos gastrointestinales observada en este estudio, coincide con la señalada por Díez-Baños *et al.* (1990, 1995, 2010) y Pato *et al.* (2009 a, c y 2011 a, b) en corzos abatidos en el noroeste de España, quienes habían comprobado que todos los animales examinados albergaban nematodos gastrointestinales. Probablemente, este elevado porcentaje de infección se deba a las condiciones climáticas de la Comunidad gallega, ya que la elevada disponibilidad de agua caída en forma de precipitaciones, junto con la existencia de temperaturas moderadas favorece el desarrollo y supervivencia de las formas de vida libre de estos nematodos y la contaminación de los pastos (Díaz, 2006; Vázquez *et al.*, 2009, 2010).

Además, diversos estudios (Vetýška, 1980; Kochko, 1997; Rehbein *et al.*, 2000; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003; Pilarczyk *et al.*, 2005) realizados en corzos del centro de Europa señalan valores de prevalencia muy elevados, entre el 90% y el 100%. Por el contrario, en Polonia, Pacon (1994) comprobó

que el porcentaje de corzos que albergaban adultos de nematodos gastrointestinales era más reducido, oscilando entre el 50 y el 81%.

La intensidad media de parasitación, así como el número mínimo y máximo de adultos varió en los diferentes tramos del aparato digestivo (Tabla 12), siendo netamente superior en el abomaso. Mediante ANOVA se comprobó que las diferencias en la intensidad de infección eran estadísticamente significativas ($F=1484,811$; $p<0,001$). El test *post hoc* de Bonferroni reveló que la intensidad de infección del abomaso era significativamente superior a la del resto de tramos intestinales ($p<0,001$). No hay apenas diferencias en la intensidad de infección en intestino grueso y ciego.

	RANGO	INTENSIDAD MEDIA
ABOMASO	28-6699	954±769
INT. DELGADO	2-1288	85±143
INT. GRUESO	1-15	3±2
CIEGO	1-18	3±3
TOTAL	3-10072	1070±1020

Tabla 12.- Prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales en los diferentes tramos del aparato digestivo.

En este estudio hemos hallado 10 géneros de nematodos gastrointestinales (Figura 85). *Ostertagia* y *Spiculopteragia* se identificaron en casi todos los animales estudiados, mientras que *Nematodirus*, *Trichuris* y *Oesophagostomum* se detectaron entre el 63 y el 49% de los corzos y en menor proporción, se observaron *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*, *Chabertia*, *Cooperia* y *Haemonchus*.

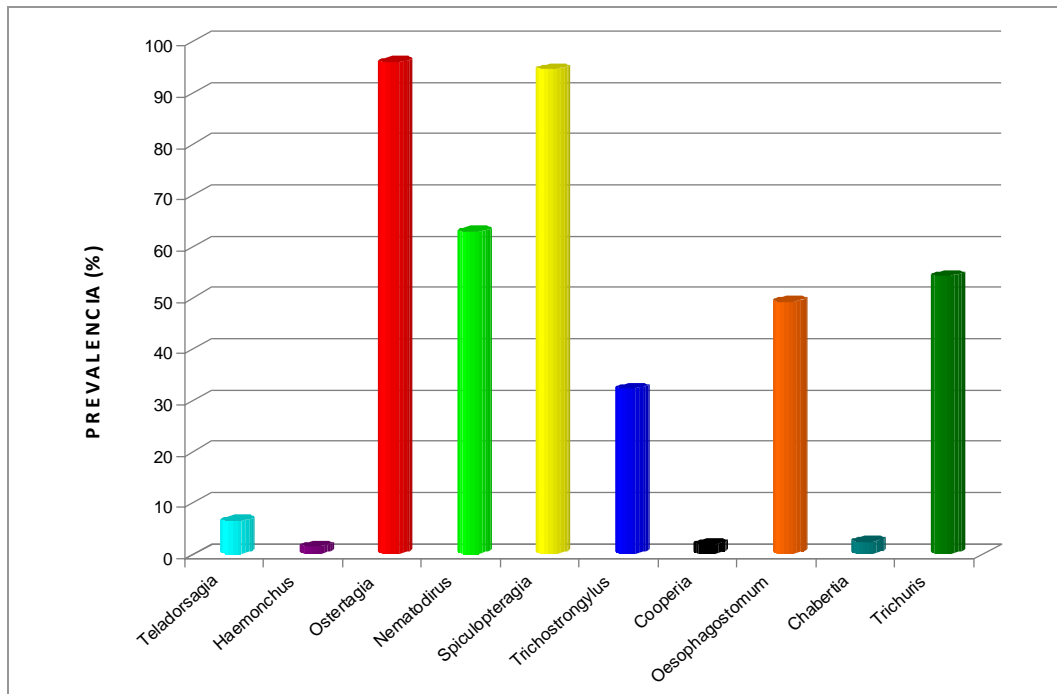


Figura 85.- Porcentaje de infección por los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales.

La prevalencia de los géneros hallada en nuestro estudio coincide, en general, con la señalada recientemente en otros trabajos del norte de España y del resto de Europa (Díez-Baños *et al.*, 1990; Borgsteede *et al.*, 1990; Aguirre *et al.*, 1999; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003; Pilarczyk *et al.*, 2005).

En estos y otros estudios europeos también se han encontrado otros géneros, como *Ashworthius* (Ferté *et al.*, 1999), *Bunostomum* (Borgsteede *et al.*, 1990) o *Capillaria* (Aguirre *et al.*, 1999; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003; Pilarczyk *et al.*, 2005), aunque los porcentajes señalados fueron reducidos.

La prevalencia de los géneros en los distintos tramos del aparato digestivo se resume en la Figura 86. En abomaso se identificaron *Nematodirus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Spiculopteragia*, *Trichostrongylus* y *Haemonchus*; en intestino delgado se obtuvieron todos los anteriores excepto *Haemonchus* y *Teladorsagia*, además de *Cooperia*; en ciego e intestino grueso se identificaron *Oesophagostomum* y *Trichuris* y en intestino grueso a mayores de los anteriores también se halló *Chabertia*.

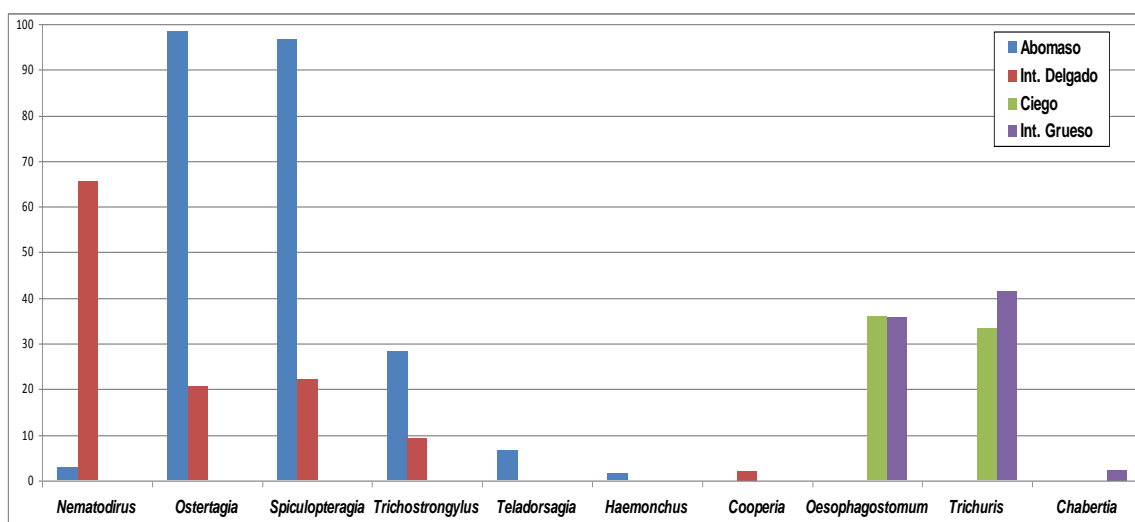


Figura 86.- Porcentaje de los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales hallados al considerar su localización.

El porcentaje de infección por *Nematodirus* fue superior en el intestino delgado, mientras que *Ostertagia*, *Spiculopteragia* y *Trichostrongylus* fueron más prevalentes en el abomaso; con Chi-cuadrado (Tabla 13) se comprobó que estas diferencias eran significativas. Por otra parte *Trichuris* predominó en intestino grueso, aunque estas diferencias no fueron significativas.

Género	Chi-cuadrado (X^2)	Significación (p)
<i>Nematodirus</i>	182,861	<0,001 (*)
<i>Ostertagia</i>	264,673	<0,001 (*)
<i>Spiculopteragia</i>	242,007	<0,001 (*)
<i>Trichostrongylus</i>	25,257	<0,001 (*)
<i>Teladorsagia</i>	14,278	<0,001 (*)
<i>Haemonchus</i>	2,979	0,248
<i>Cooperia</i>	4,058	0,061
<i>Oesophagostomum</i>	0,002	0,965
<i>Trichuris</i>	3,076	0,079
<i>Chabertia</i>	5,155	0,029

Tabla 13.- Resultados de la prueba Chi-cuadrado respecto al porcentaje de infección por los diversos géneros de nematodos gastrointestinales, al considerar su localización.

La intensidad de infección fue más elevada en el caso de los géneros *Spiculopteragia* y *Ostertagia* (Tabla 14), seguido por *Nematodirus* y *Trichostrongylus*. Por el contrario, las cargas parasitarias por *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Trichuris* y *Chabertia* fueron muy reducidas y nunca superaron los 20 adultos.

Género	Intensidad ($\bar{x} \pm D.E.$)	Rango
<i>Nematodirus</i>	199±871	2-10000
<i>Ostertagia</i>	443±489	4-4692
<i>Spiculopteragia</i>	497±367	3-2739
<i>Trichostrongylus</i>	129±252	3-1100
<i>Haemonchus</i>	1±0	1-1
<i>Teladorsagia</i>	29±33	5-107
<i>Cooperia</i>	18±22	4-49
<i>Oesophagostomum</i>	6±5	2-32
<i>Trichuris</i>	3±3	1-16
<i>Chabertia</i>	2±1	1-3

Tabla 14.- Intensidad y rango de infección por los diferentes géneros de nematodos gastrointestinales identificados.

En la Tabla 15 se resume el rango e intensidad de infección de los diferentes géneros al considerar su localización en el aparato digestivo. En general, observamos que la mayor intensidad de infección por *Nematodirus*, *Ostertagia*, *Spiculopteragia* y *Trichostrongylus* correspondió al abomaso, mientras que en ciego e intestino grueso predominó *Oesophagostomum*.

Mediante ANOVA se comprobó que la intensidad de infección por *Nematodirus*, *Ostertagia*, *Spiculopteragia*, *Trichostrongylus* y *Teladorsagia* era significativamente superior en el abomaso que en el intestino delgado (Tabla 15).

Estos resultados coinciden, en general, con los hallados en estudios previos por nosotros (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 b) en los que la prevalencia

e intensidad de infección hallada en abomaso fue de: 97%; $\bar{x} = 503$ para *Ostertagia*; de 97%, $\bar{x} = 638$ para *Spiculopteragia*; de 33%, $\bar{x} = 191$ para *Trichostrongylus*; de 5%, $\bar{x} = 414$ para *Nematodirus* y de 2%, $\bar{x} = 6$ para *Haemonchus*.

	LOCALIZACIÓN	RANGO	INTENSIDAD	ANOVA (F;p)
<i>Nematodirus</i>	Abomaso	7-1088	200±435	251,726; <0,001
	Int. delgado	2-10000	192±871	
<i>Ostertagia</i>	Abomaso	6-4692	437±481	1832,085; <0,001
	Int. delgado	3-1200	48±182	
<i>Spiculopteragia</i>	Abomaso	5-2597	495±359	1463,356; <0,001
	Int. delgado	4-18	33±64	
<i>Trichostrongylus</i>	Abomaso	4-1078	138±250	30,773; <0,001
	Int. delgado	3-394	39±87	
<i>Teladorsagia</i>	Abomaso	5-107	29±33	12,291; <0,001
	Int. delgado	0	0	
<i>Haemonchus</i>	Abomaso	4-9	6±3	2,919; 0,088
	Int. delgado	0	0	
<i>Cooperia</i>	Abomaso	0	0	3,653; 0,057
	Int. delgado	4-49	18±21	
<i>Oesophagostomum</i>	Ciego	1-16	3±3	0,017; 0,898
	Int. grueso	1-12	2±2	
<i>Trichuris</i>	Ciego	1-10	2±2	1,998; 0,158
	Int. grueso	1-11	2±1	
<i>Chabertia</i>	Ciego	0	0	4,703; 0,031
	Int. grueso	1-3	1±1	

Tabla 15.- Rango e intensidad media de infección de los géneros de nematodos gastrointestinales al considerar su localización.

Además, en intestino delgado se hallaron todos los anteriores excepto *Haemonchus*; aunque la prevalencia e intensidad de infección fue menor para todos (*Ostertagia*: 26%, $\bar{x} = 35±48$; *Spiculopteragia*: 28%, $\bar{x} = 50±96$; *Trichostrongylus* 12%, $\bar{x} = 81±158$) excepto para *Nematodirus* (75%, $\bar{x} =$

106±121). En ciego e intestino grueso se identificaron *Oesophagostomum* (47%, $\bar{x} = 3 \pm 2$; 34%, $\bar{x} = 3 \pm 2$, respectivamente) y *Trichuris* (36%, $\bar{x} = 2 \pm 2$; 50%, $\bar{x} = 2 \pm 2$, respectivamente); además en intestino grueso también se halló *Chabertia* (3%, $\bar{x} = 3 \pm 1$). No obstante, como dijimos anteriormente, en estos estudios previos habíamos examinado un menor número de corzos, lo que probablemente es la causa de no haber observado *Teladorsagia* ni *Cooperia*.

4.1.2.1.1. En abomaso

Todos los corzos examinados albergaban nematodos gastrointestinales en este tramo y su número osciló entre 28 y 6699, siendo la intensidad media de infección de 9544±769; estos resultados son similares a los observados por nosotros (100%; $\bar{x} = 1.189$) en estudios previos (Pato, 2010; Pato et al., 2011 b).

En el presente estudio hemos comprobado que en este tramo intestinal se halla la mayor prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales, lo que coincide con lo observado en ganado ovino (Uriarte et al., 2003 y Gómez-Ricón et al., 2003) y vacuno (Uriarte et al., 1982; Almería et al., 1996, 2000), puesto que estos autores señalan que el abomaso es el tramo intestinal que albergaba mayor carga parasitaria.

Los géneros más prevalentes fueron *Ostertagia* (98,6%) y *Spiculopteragia* (96,7%) y, en menor proporción, se hallaron *Trichostrongylus* (28,4%), *Nematodirus* (2,8%) y *Haemonchus* (1,4%), siendo estos resultados, en general, similares a los observados en corzos del noroeste de España por Díez-Baños et al. (1990) y a los hallados en otros países europeos por Jansen (1959, 1975), Rehbein et al. (2000) y Balicka-Ramisz et al. (2003). Asimismo, nuestros resultados coinciden, parcialmente, con los señalados por Kochko (1997) en corzos de Bielorrusia, donde los géneros más prevalentes en abomaso fueron *Ostertagia* y *Trichostrongylus*, y en menor proporción hallaron *Cooperia* y *Haemonchus*.

En el abomaso se hallaron 12 especies de nematodos gastrointestinales.

Se identificaron 2 especies de *Ostertagia*: *O. leptospicularis* y *O. kolchida* (Fotos 7-8).

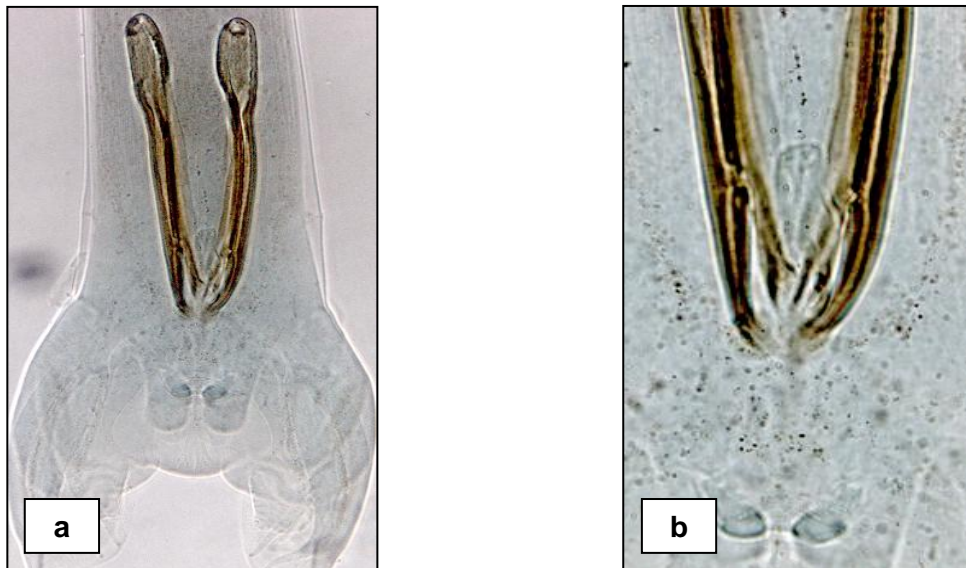


Foto 7.- Bolsa copulatriz de *O. leptospicularis* (a). Detalle de las espículas ramificadas en tres procesos y del gubernáculo en forma de “raqueta” (b).

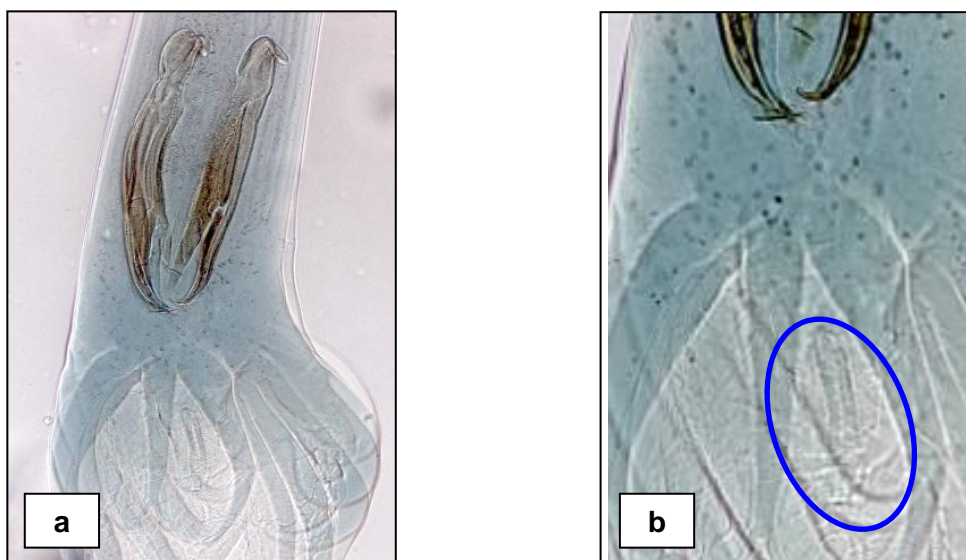


Foto 8.- Bolsa copulatriz de *O. kolchida*, con 2 robustas espículas divididas en 3 ramas (a). Detalle del cono genital (b).

Se identificaron 2 especies de *Teladorsagia*: *T. circumcincta* y *T. trifurcata* (Fotos 9-10).

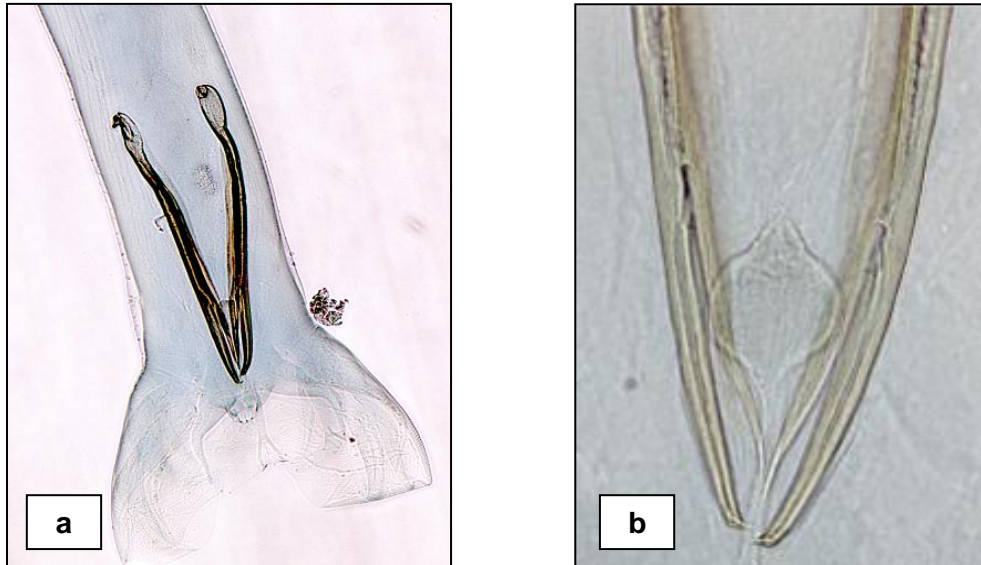


Foto 9.- Bolsa copulatriz de *T. circumcincta*, se aprecian espículas largas y delgadas (a) y el característico gubernáculo en forma de "raya marina" (b).

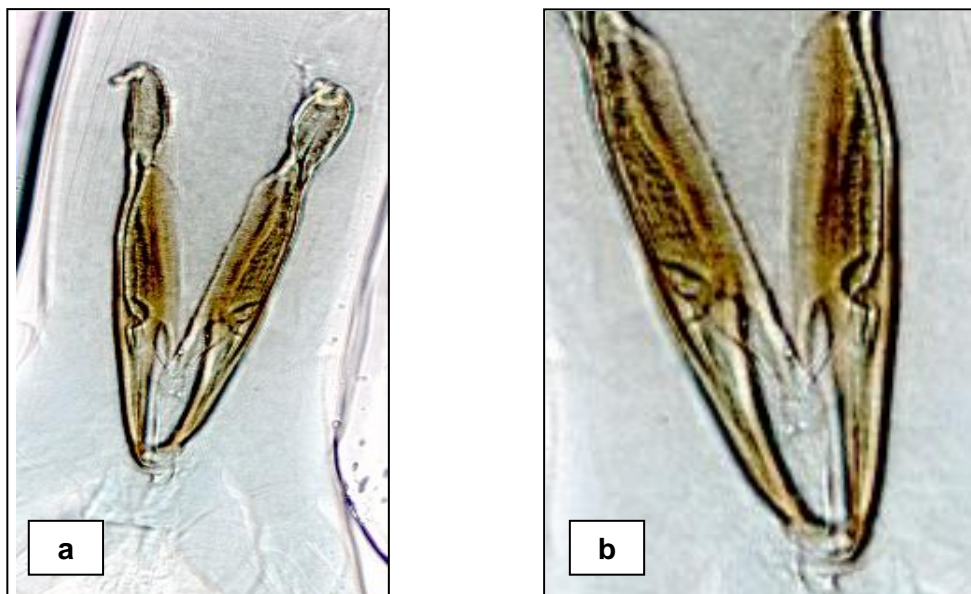


Foto 10.- Bolsa copulatriz de *T. trifurcata*, con espículas robustas que presentan tres prolongaciones, la del medio más corta que las externas (a), y con un gubernáculo alargado (b).

Se identificaron 4 especies de *Trichostrongylus*: *T. vitrinus*, *T. axei*, *T. capricola* y *T. colubriformis* (Fotos 11-14).



Foto 11.- Bolsa copulatriz de *T. vitrinus* (a). Detalle de las espículas puntiagudas que se aproximan al gubernáculo en forma de “huso” (b).



Foto 12.- Bolsa copulatriz de *T. axei* con espículas, cortas y de desigual longitud y forma (a). Gubernáculo con forma de “huso” (b).

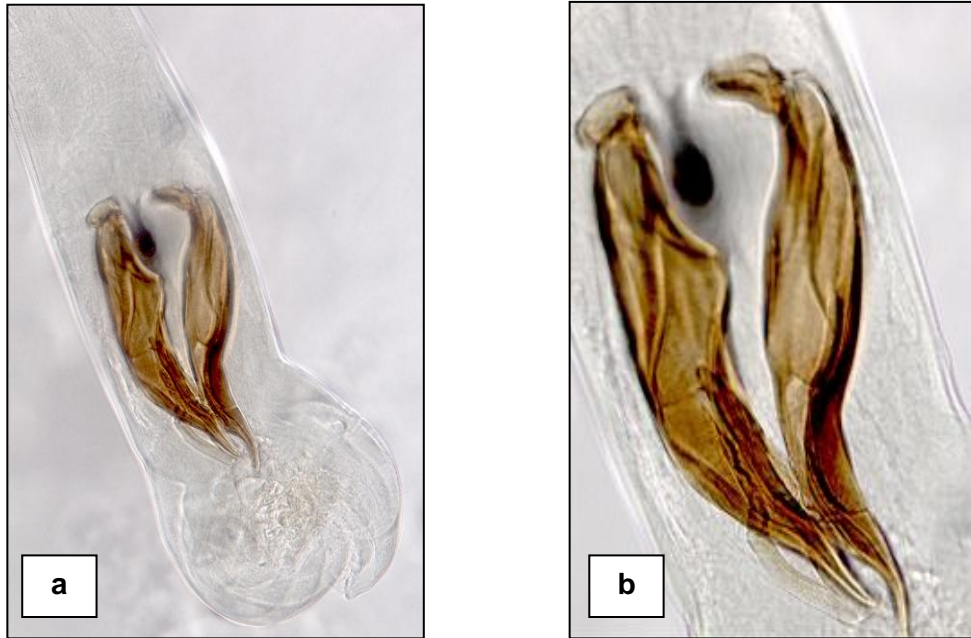


Foto 13.- Bolsa copulatriz de *T. capricola* (a). Detalle de espículas cortas y robustas (b).

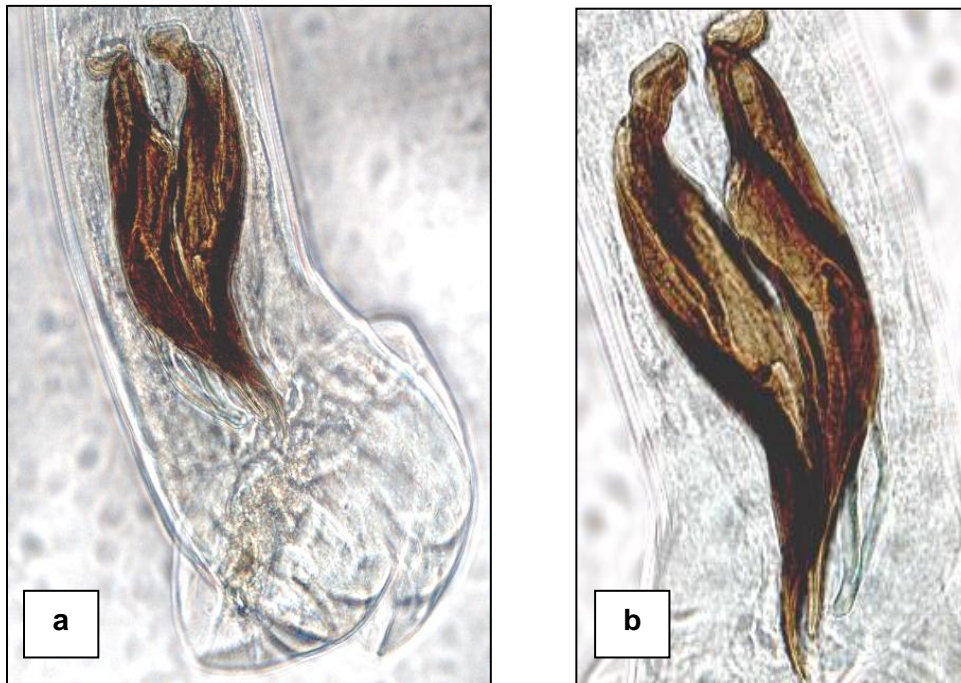


Foto 14.- Bolsa copulatriz de *T. colubriformis* (a) con espículas cortas, robustas y de tonalidad marrón oscuro (b).

Se identificaron 2 especies de *Spiculoptera*: *S. spiculoptera* y *S. mathevossiani* (Fotos 15-16).



Foto 15.- Bolsa copulatriz de *S. spiculoptera* (a), con espículas que terminan en forma de “abanico” (b).

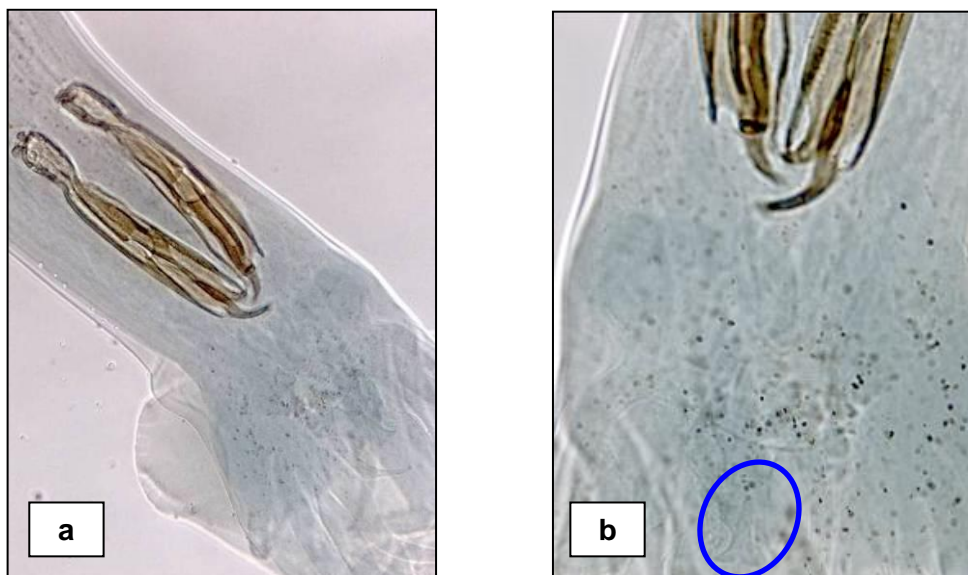


Foto 16.- Bolsa copulatriz de *S. mathevossiani*, con espículas robustas y ramificadas (a) y detalle de la estructura característica en forma “triangular” (b).

Se identificó una especie de *Nematodirus*: *N. filicollis* (Foto 17).

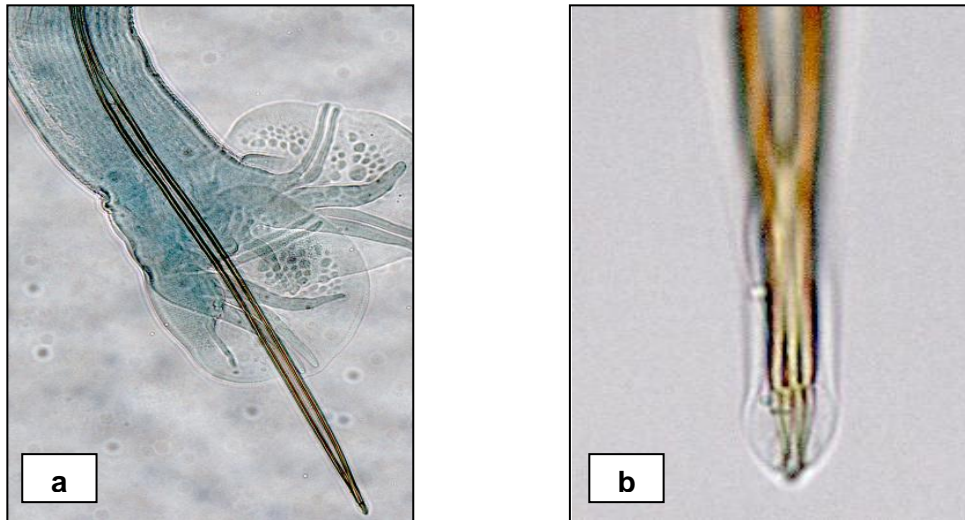


Foto 17.- Bolsa copulatriz de *N. filicollis* (a), con espículas largas, delgadas y de estructura tubular que, en su parte distal, están unidas y recubiertas por una membrana quitinosa que termina en forma de “lanceta” (b).

Finalmente, se identificó una especie de *Haemonchus*: *H. contortus* (Foto 18).

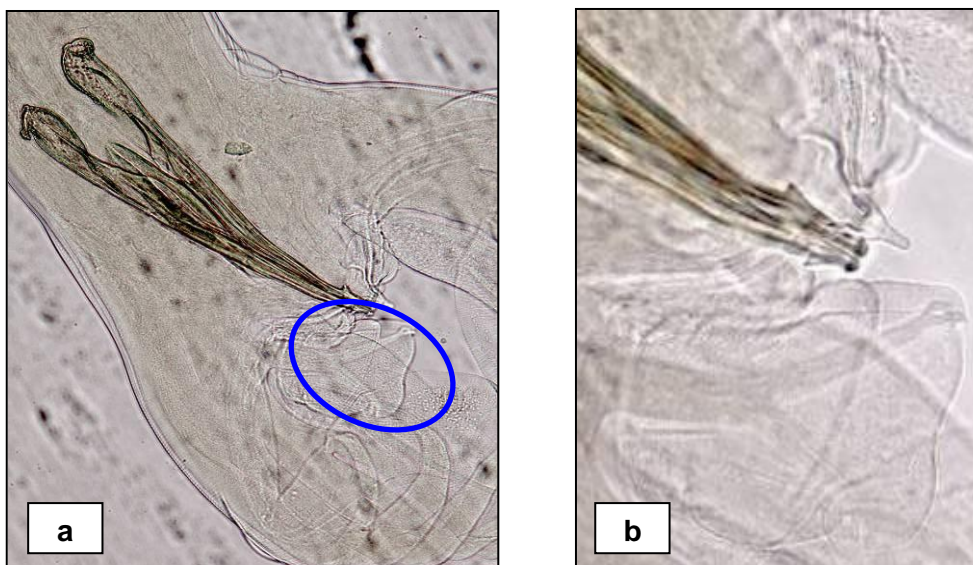


Foto 18.- Bolsa copulatriz de *H. contortus* en la que se aprecia el lóbulo accesorio con una costilla en forma de “Y” (a). Detalle de las espículas en la que se observan papilas de diferente longitud en su parte distal (b).

En la Figura 87 se aprecia que, en el presente estudio, las especies más prevalentes fueron *S. spiculoptera*, *O. leptospicularis*, *O. kolchida* y *S. mathevossiani*. La mayoría de los trabajos realizados en corzos en Europa señalan que *O. leptospicularis* y *S. spiculoptera* son las dos especies más prevalentes en el abomaso de estos rumiantes silvestres (Jansen, 1959, 1975; Vetýška, 1980; Rossi *et al.*, 1997; Ferté *et al.*, 1999; Togni *et al.*, 2004); además, los últimos autores, en corzos abatidos en el Norte de Italia señalaron una elevada prevalencia de *Ostertagia kolchida* y *Spiculoteragia mathevossiani*, lo que coincide con nuestros resultados. Por el contrario, en corzos de Suecia, Aguirre *et al.* (1999) señalaron que *T. axei* era la especie más frecuente en abomaso (25%), mientras que los valores de prevalencia de *O. leptospicularis*, *S. mathevossiani* y *S. spiculoptera* fueron inferiores al 8%.

En la provincia de Salamanca, Ramajo *et al.* (2007) hallaron que el 11% de los corzos estaban parasitados por *Trichostrongylus axei*, siendo este porcentaje superior al hallado en este estudio; además, observaron una elevada prevalencia de *Teladorsagia davtiani* (63%), especie que no hemos hallado en este trabajo.

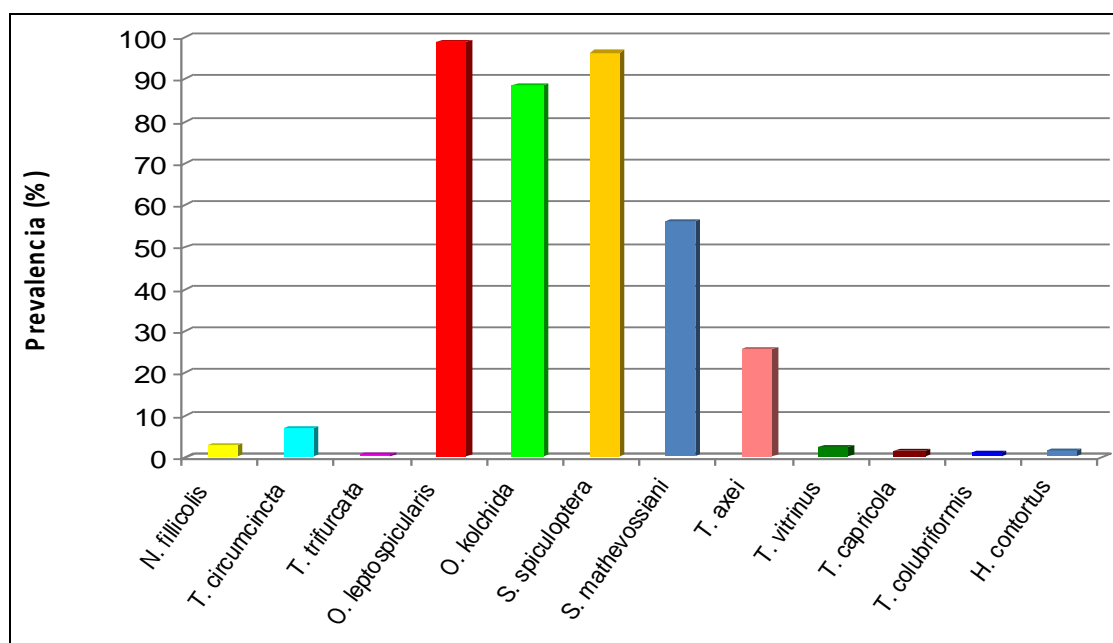


Figura 87.- Prevalencia de las especies de nematodos identificadas en el abomaso.

La prevalencia de *Haemonchus contortus* detectada en este trabajo es baja, lo que coincide con lo observado por otros autores en rumiantes silvestres, excepto en ciervo y antílope americano en los que es más frecuente (Hobert *et al.*, 2001).

Al comparar las especies halladas en el abomaso de los corzos con las señaladas por otros autores en **ganado ovino en pastoreo en España**, observamos que las especies que había identificado Díez-Baños (1989) en ganado ovino sacrificado en un matadero de León, hay 6 especies comunes (*Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata*, *Trichostrongylus axei*, *T. capricola*, *T. vitrinus* y *H. contortus*). Asimismo, nuestros resultados coinciden en parte con los observados por Uriarte *et al.* (2003), quienes comprobaron que en el abomaso de ovejas en pastoreo en el valle del Ebro, el 72,5% de la carga parasitaria se observaba en abomaso, identificando *Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata*, *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus axei*. Posteriormente, en ovinos en pastoreo en Aragón, Gómez-Rincón *et al.* (2006) también observaron que la carga parasitaria más elevada se observa en este tramo intestinal (76,6%) y que las especies que predominaban en el eran *Teladorsagia circumcincta* y *Trichostrongylus axei*.

Al relacionar las especies halladas en el abomaso de los corzos con las señaladas por otros autores en **ganado vacuno** en pastoreo en diferentes regiones de España, comprobamos que hay 4 especies (*T. trifurcata*, *T. axei*, *T. vitrinus* y *H. contortus*) que son comunes con las halladas por Del Valle *et al.* (1978) en vacas sacrificadas en León; asimismo, García Romero (1992), halló 5 especies en ganado vacuno sacrificado en Galicia de las cuales 3 (*T. circumcincta*, *T. axei* y *H. contortus*) coinciden con las identificadas por nosotros.

Uriarte *et al.* (1982) observaron que las cargas parasitarias de nematodos gastrointestinales, en terneras que pastaban con sus madres en praderas de regadío, se observaban en cuajar e identificó *Ostertagia ostertagi* y *Trichostrongylus axei*. Posteriormente, Almería *et al.* (1996, 2000) en ganado vacuno mantenido en pastoreo extensivo en el pirineo aragonés, observaron

que en este tramo se observaban las cifras más elevadas de vermes por animal; además, entre las especies que identificaron, coinciden con las halladas por nosotros en corzo *Teladorsagia circumcincta* y *Trichostrongylus axei*. Además, Almería *et al.* (2000) habían señalado que el hallazgo de *T. circumcincta* en ganado vacuno podía deberse al hecho de que, en esa zona los bovinos explotados en extensivo comparte pastos con los ciervos, ya que en esa zona hacía varios años que no pastaba ganado ovino.

En la Tabla 16 se resume el rango y la intensidad de infección de las distintas especies halladas en el abomaso; hay que señalar que aunque *T. vitrinus* y *N. filicollis* fueron especies poco prevalentes, sin embargo presentaron una alta intensidad de infección. Además, los corzos estudiados presentaron una elevada intensidad de infección por *S. spiculoptera* y *O. leptospicularis*.

	INTENSIDAD	RANGO
<i>T. circumcincta</i>	28±30	5-85
<i>T. trifurcata</i>	21±0	21-21
<i>O. leptospicularis</i>	383±406	6-3706
<i>O. kolchida</i>	59±89	3-985
<i>S. spiculoptera</i>	483±349	5-2545
<i>S. mathevossiani</i>	25±32	1-115
<i>N. filicollis</i>	200±435	7-1088
<i>T. vitrinus</i>	350±474	8-1078
<i>T. axei</i>	119±219	4-1056
<i>T. capricola</i>	28±40	4-73
<i>T. colubriformis</i>	13±10	6-20
<i>H. contortus</i>	6±3	4-9

Tabla 16.- Intensidad y rango de infección de las diferentes especies de nematodos identificadas en el abomaso.

El número de adultos de *Trichostrongylus axei* fue similar al observado por Ramajo *et al.* (2007) en corzos abatidos en la provincia de Salamanca ($\bar{x} = 200$).

En relación al número de especies identificadas en los corzos, la Figura 88 muestra que las infecciones cuádruples fueron las más frecuentes, seguidas por las triples y las quíntuples. En un pequeño porcentaje de animales, que no superó el 13%, se identificaron una, dos, seis, siete u ocho especies diferentes de nematodos. Estos resultados difieren ligeramente de los hallados por Díez-Baños (1989), en ganado ovino sacrificado en la provincia de León, puesto que esta autora comprobó que entre las asociaciones específicas predominaban las triples (31,3%), seguidas por las dobles (22,8%) y las cuádruples (22,5%) y en menor proporción halló las monoespecíficas (13,1%) y las formadas por 5 (7,8%), 6 (2,5%) y 7 (0,3%) especies. Asimismo, nuestros resultados difieren de los hallados por Del Valle *et al.* (1978) en ganado vacuno sacrificado en un matadero de León, ya que comprobaron que las infecciones puras eran las más prevalentes, seguidas en orden decreciente, por las triples, dobles, cuádruples y quíntuples.

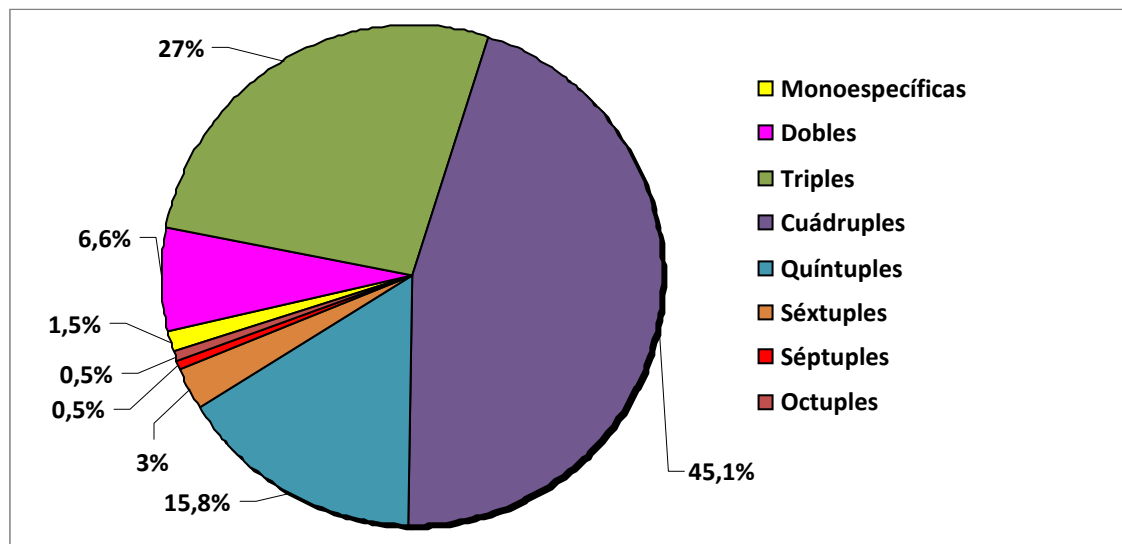


Figura 88.- Tipos de asociaciones específicas halladas en el abomaso.

Además, como puede observarse en la Tabla 17, dentro de las infecciones cuádruples la asociación más frecuente fue la de *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S. spiculoptera* y *S. mathevossiani*; dentro de las triples predominó la integrada *O. leptospicularis*, *O. kolchida* y *S. spiculoptera* y; en las quintuples las más prevalente fue *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S. spiculoptera*, *S. mathevossiani* y *T. axei*. Estos resultados difieren ligeramente de los hallados, en ganado ovino de la provincia de León, por Díez-Baños (1989) puesto que comprobó que las infecciones triples eran las más frecuentes y estaban integradas en su mayor parte por *T. circumcincta*, *T. trifurcata* y *T. axei*.

ASOCIACIONES	ESPECIES *	%
ÓCTUPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>Tel.cir</i> + <i>N. fil</i> + <i>T. vit</i>	0,5
SÉPTUPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>Tel. cir</i> + <i>H. con</i>	0,5
SÉXTUPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>Tel. cir</i>	1
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>Tel. cir</i> + <i>Tel. Tri</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>Tel. cir</i> + <i>H. con</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i> + <i>T. vit</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. ax</i> + <i>Tel. cir</i> + <i>T. col</i>	0,5
QUINTUPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i>	10,8
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>Tel. cir</i>	3,2
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>N. fil</i>	1,3
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i>	0,5
CUÁDRUPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i>	32,7
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. axe</i>	9,4
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. cap</i>	1
	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. axe</i>	1
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. vit</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>N. fil</i>	0,5
TRIPLES	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i>	22,2
	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i>	2,3
	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>N. fil</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. axe</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. vit</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>O. Kol</i> + <i>T. axe</i>	0,5
	<i>O. lep</i> + <i>S. mat</i> + <i>T. vit</i>	0,5
DOBLES	<i>O. lep</i> + <i>S. spi</i>	4,8
	<i>O. lep</i> + <i>O. kol</i>	1,3
	<i>S. spi</i> + <i>S. mat</i>	0,5
MONOESPECÍFICAS	<i>O. lep</i>	0,5
	<i>N. fil</i>	0,5
	<i>T. vit</i>	0,5

(*) *N. fil*: *Nematodirus filicollis*; *Tel. cir*: *Teladorsagia circumcincta*; *O. kol*: *Ostertagia kolchida*; *O. lep*: *Ostertagia leptospicularis*; *Tel. tri*: *Teladorsagia trifurcata*; *S. mat*: *Spiculoptera mathevossiani*; *S. spi*: *Spiculoptera spiculoptera*; *T. vit*: *Trichostrongylus vitrinus*; *T. axe*: *Trichostrongylus axei*; *T. cap*: *Trichostrongylus capricola*; *T. col*: *Trichostrongylus colubriformis*; *H. con*: *Haemonchus contortus*.

Tabla 17.- Prevalencias de las distintas asociaciones específicas halladas en el abomaso.

4.1.2.1.2.- En intestino delgado

La mayoría (91,8%) de los intestinos delgados examinados albergaban nematodos gastrointestinales y su número osciló entre 2 y 1288 ($\bar{x} = 85 \pm 143$), siendo por tanto la intensidad de infección significativamente inferior a la observada en el abomaso ($\bar{x} = 9.544 \pm 769$); resultados similares a los hallados en estudio previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) en los que examinamos menor número de animales.

Además, estos coinciden con lo observado por Uriarte *et al.* (2003) y Gómez-Rincón *et al.* (2006) en ovinos en pastoreo y por Uriarte *et al.* (1982) y Almería *et al.* (1996) en ganado vacuno explotado en el Pirineo aragonés, quienes comprobaron que la carga parasitaria que albergaba el intestino delgado era sensiblemente inferior a la hallada en el cuajar.

El género más prevalente fue *Nematodirus* (65,4%) y en menor proporción se hallaron *Spiculoptera* (22,1%), *Ostertagia* (20,7%), *Trichostrongylus* (9,1%) y *Cooperia* (1,9%). Estos resultados coinciden con los hallados en otros estudios europeos en los que se indican que *Nematodirus* es el género más frecuente en intestino delgado de corzos (Díez Baños *et al.*, 1990; Pacon, 1994; Kochko, 1997; Rossi *et al.*, 1997; Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b). Al igual que nosotros, otros autores hallaron *Trichostrongylus* o *Cooperia* en intestino delgado, pero en menor proporción que *Nematodirus* (Borgsteede *et al.*, 1990; Reina *et al.*, 1992; Rehbein *et al.*, 2000; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003).

La baja prevalencia de *Cooperia* hallada en este estudio coincide con lo señalado por Hoberg *et al.* (2001), que señalaron que este género parasita fundamentalmente al ganado ovino y bovino, mientras que su prevalencia e intensidad de infección suele ser baja en cérvidos y bóvidos silvestres.

En el intestino delgado se hallaron 13 especies de nematodos gastrointestinales. Además de *N. fillicollis*, *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S.*

spiculoptera, *S. mathevossiani*, *T. vitrinus*, *T. axei*, *T. capricola* y *T. colubriformis*; se identificaron *N. spathiger* (Foto 19) y 3 especies de *Cooperia*: *C. pectinata*, *C. punctata* y *C. oncophora* (Fotos 20-22).



Foto 19.- Bolsa copulatriz de *N. spathiger*, con 2 espículas largas y delgadas (a). Detalle de la parte distal de las espículas en las que se aprecia una dilatación con forma de “espátula” (b).

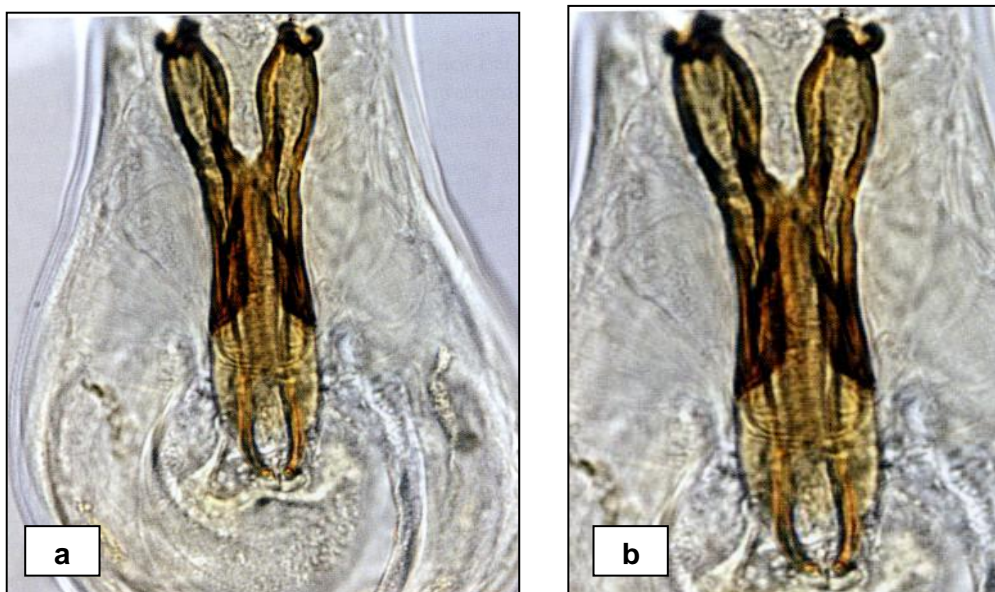


Foto 20- *C. pectinata*: bolsa copulatriz (a). Detalle de las espículas donladas en su tercio medio (b).

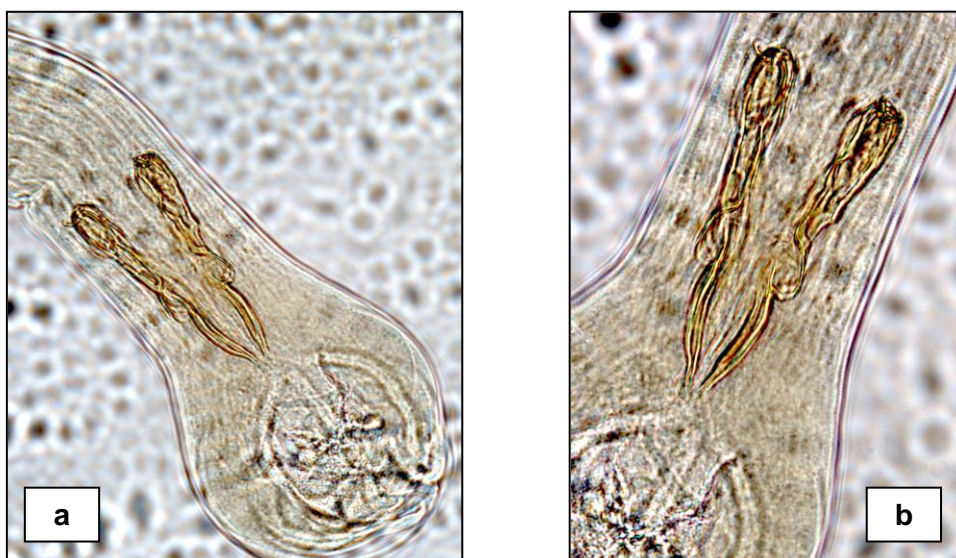


Foto 21- *C. punctata*: bolsa copulatriz (a). Detalle de las espículas con las crestas redondeadas laterales en la mitad de su longitud y que terminan de forma obtusa (b).



Foto 22.- Bolsa copulatriz de *C. oncophora*: grande y bien desarrollada (a). Detalle de las espículas que terminan de forma roma (b).

En la Figura 89 se aprecia que las especies más prevalentes fueron *N. filicollis*, *S. spiculoptera* y *O. leptospicularis*. El porcentaje de *N. filicollis*, fue netamente superior al señalado (13%) en corzos abatidos en la provincia de Salamanca por Ramajo *et al.* (2007); además, debemos señalar que aunque *S.*

spiculoptera se localiza fundamentalmente en abomaso, Hidalgo *et al.* (2010) ya la habían hallado en el 22,8% de los intestinos delgados de ciervos abatidos en la provincia de León. Las especies identificadas por nosotros en este tramo intestinal y su prevalencia coinciden con lo observado por nosotros en estudios previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) pero difieren de las señaladas por Borgsteede *et al.* (1990) quienes señalaron a *T. capricola* como la especie más abundante en intestino delgado de corzos abatidos en Holanda, identificando, además, dos especies no halladas en el presente estudio: *Nematodirus europaeus* y *Bunostomum trigonocephalum*. En Italia, Rossi *et al.* (1997) únicamente hallaron *N. europaeus* en intestino delgado, mientras que Balicka-Ramisz *et al.* (2003), en Polonia, identificaron *Haemonchus contortus* y *Capillaria bovis*.

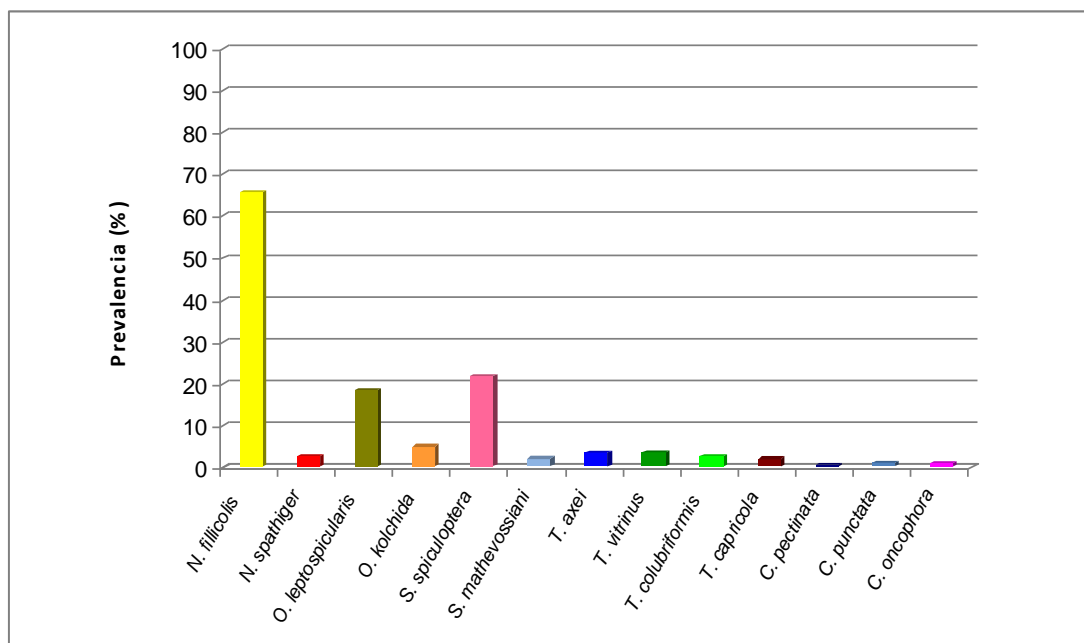


Figura 89.- Prevalencia de las especies de nematodos identificadas en el intestino delgado.

Asimismo, aunque la localización principal de *Trichostrongylus axei* es el abomaso, García Romero (1992) y Garijo *et al.* (2009) también hallaron esta especie en intestino delgado de ganado vacuno y ovino sacrificado, respectivamente, en Galicia y en Murcia.

Al comparar las especies halladas en el intestino delgado de los corzos con las señaladas en **ovinos** en pastoreo por Uriarte *et al.* (2003) y Gómez-Rincón *et al.* (2006), observamos que las especies comunes en estas 2 especies de rumiantes fueron: *Trichostrongylus colubriformis*, *T. vitrinus*, *Nematodirus spathiger* y *N. filicollis*.

En **ganado vacuno** mantenido en un clima oceánico, García Romero (1992) y Nogareda *et al.* (2006) entre otras especies, en el intestino delgado hallaron *T. axei*, *C. oncophora* y *C. punctata* y Almería *et al.* (1996, 2000) en vacas en pastoreo en el pirineo aragonés también habían observado *T. axei* y *C. oncophora*, por lo que los corzos pueden compartir con el ganado vacuno *T. axei*, *C. oncophora* y *C. punctata*.

En la Tabla 18, se especifica el rango y la intensidad de infección de cada una de las especies halladas, siendo *Trichostrongylus capricola* y *Nematodirus filicollis* las que presentaron mayor intensidad de infección.

	INTENSIDAD	RANGO
<i>N. filicollis</i>	191±871	2-10000
<i>N. spathiger</i>	8±4	4-13
<i>O. leptospicularis</i>	52±194	3-1200
<i>O. kolchida</i>	10±5	4-18
<i>S. spiculoptera</i>	33±64	3-338
<i>S. mathevossiani</i>	11±7	3-1200
<i>T. vitrinus</i>	11±7	3-22
<i>T. axei</i>	22±16	4-42
<i>T. colubriformis</i>	26±26	4-68
<i>T. capricola</i>	97±154	8-326
<i>Cooperia pectinata</i>	31±31	31-31
<i>Cooperia punctata</i>	12±9	6-19
<i>Cooperia oncophora</i>	9±7	4-14

Tabla 18.- Intensidad y rango de infección de las diferentes especies de nematodos identificadas en el intestino delgado.

No obstante, hay que señalar que *N. filicollis* fue además la más prevalente en el intestino, mientras que *T. capricola* presentó una escasa prevalencia. El número de adultos de *N. filicollis* fue netamente similar al observado por Ramajo *et al.* (2007) en corzos abatidos en la provincia de Salamanca ($\bar{x} = 187$).

Al comparar las cifras medias de *T. vitrinus* y *N. spathiger* en los corzos examinados, observamos que estas son sensiblemente inferiores a las señaladas por Gómez-Rincón *et al.* (2006) para estas especies en ganado ovino; además las cargas parasitarias de *T. axei* y *C. oncophora* también fueron sensiblemente inferiores a las halladas en ganado vacuno por Almería *et al.* (2000).

Al estudiar el número de especies de nematodos gastrointestinales presentes en el intestino delgado, se apreció que las infecciones más frecuentes eran las monoespecíficas y las dobles (Figura 90), y en mucha menor proporción las triples, cuádruples y quíntuples, cuyo porcentaje fue inferior al 17%. Estos resultados son similares a los observados en estudios previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a).

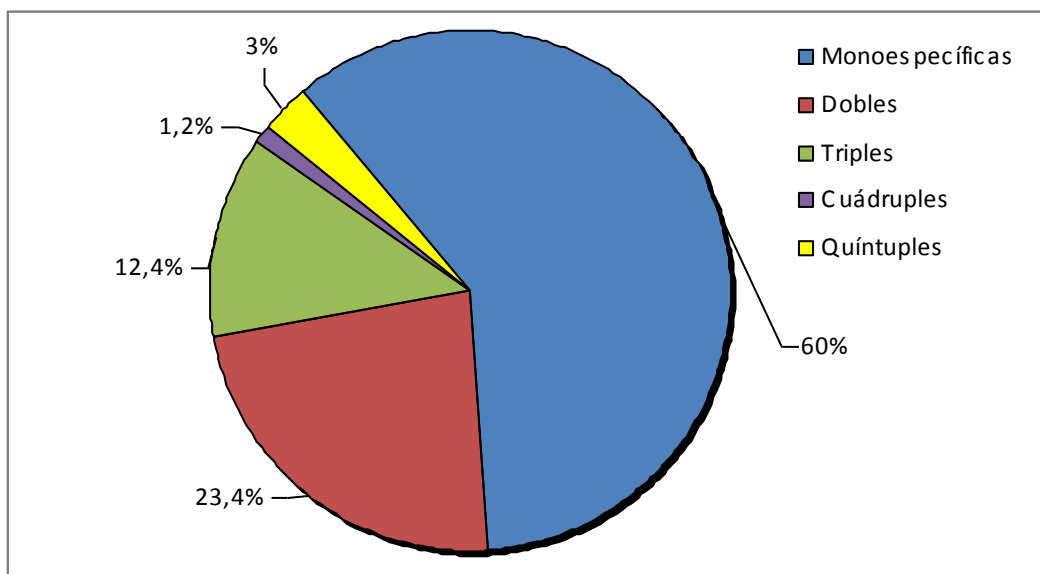


Figura 90.- Tipos de asociaciones específicas halladas en el intestino delgado.

En la Tabla 19, se observa que predominaron las infecciones por una sola especie, fundamentalmente *N. filicollis*; dentro de las dobles la combinación más frecuente fue la integrada por *N. filicollis* y *S. spiculoptera*.

ASOCIACIONES	ESPECIES *	%
QUÍNTUPLES	<i>S. spi</i> + <i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>C. pun</i> + <i>C. pec</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. col</i> + <i>T. cap</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. ax</i> + <i>T. cap</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. axe</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>O. kol</i> + <i>S. mat</i>	0,6
CUÁDRUPLES	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i>	0,6
	<i>S. spic</i> + <i>O. kol</i> + <i>T. col</i> + <i>T. cap</i>	0,6
TRIPLES	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i> + <i>O. lep</i>	3,8
	<i>S. spi</i> + <i>O. lep</i> + <i>O. kol</i>	1,4
	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i> + <i>N. spa</i>	1,2
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>C. pun</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>S. mat</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>N. spa</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>T. axe</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i> + <i>T. vit</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i> + <i>S. mat</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. axe</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i> + <i>T. vit</i>	0,6
	<i>N. fil</i> + <i>T. vit</i> + <i>T. axe</i>	0,6
	<i>S. spi</i> + <i>O. lep</i> + <i>T. vit</i>	0,6
	DOBLES	<i>N. fil</i> + <i>S. spi</i>
<i>N. fil</i> + <i>O. lep</i>		5,6
<i>S. spi</i> + <i>O. lep</i>		1,8
<i>N. fil</i> + <i>N. spa</i>		1,2
<i>O. kol</i> + <i>T. col</i>		1,2
<i>N. fil</i> + <i>C. onc</i>		1,2
<i>N. fil</i> + <i>T. vit</i>		1,2
<i>N. fil</i> + <i>T. axe</i>		0,6
<i>S. spi</i> + <i>T. cap</i>		0,6
<i>N. fil</i> + <i>O. kol</i>		0,6
MONOESPECÍFICAS		<i>N. fil</i>
	<i>O. lep</i>	3,8
	<i>S. spic</i>	3,1
	<i>T. vit</i>	0,6
	<i>T. axe</i>	0,6
	<i>T. col</i>	0,6
	<i>O. kol</i>	0,6

(*) *N. fil*: *Nematodirus filicollis*; *N. spa*: *N. spathiger*; *O. kol*: *Ostertagia kolchida*; *O. lep*: *Ostertagia leptospicularis*; *S. mat*: *Spiculoptera mathevossiani*; *S. spi*: *Spiculoptera spiculoptera*; *T. vit*: *Trichostrongylus vitrinus*; *T. axe*: *Trichostrongylus axei*; *T. col*: *Trichostrongylus colubriformis*; *T. cap*: *Trichostrongylus capricola*; *C. onc*: *Cooperia oncophora*; *C. pec*: *Cooperia pectinata*; *C. pun*: *Cooperia punctata*.

Tabla 19.- Prevalencia de las diferentes asociaciones específicas halladas en el intestino delgado.

4.1.2.1.3. En intestino grueso

En el 58,6% de los intestinos gruesos examinados se hallaron nematodos gastrointestinales y su número osciló entre 1 y 15 ($\bar{x} = 3 \pm 2$), siendo los valores de prevalencia e intensidad de infección netamente inferiores a los observados en el abomaso y en intestino delgado. Estos resultados son similares a los hallados en estudio previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) en los que examinamos menor número de animales.

La prevalencia observada en este estudio fue inferior a la señalada por Rehbein *et al.* (2000) en corzos abatidos en Alemania, donde el 89,1% de los intestinos gruesos de los corzos albergaban nematodos gastrointestinales.

Se hallaron 3 géneros, siendo los más prevalentes *Trichuris* (41,4%) y *Oesophagostomum* (35,8%) y en menor proporción *Chabertia* (2,3%). Estos resultados coinciden con los de otros autores (Vetýška 1980; Díez-Baños *et al.*, 1990; Kochko, 1997; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003; Pilarczyk *et al.*, 2005; Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) que también identificaron estos géneros de nematodos en el intestino grueso de corzos abatidos en diferentes países europeos.

Las características morfológicas de los machos y las hembras de *Trichuris capreoli*, *T. ovis*, *Oesophagostomum venulosum*, y *Chabertia ovina* se muestran en las fotos 23-26.

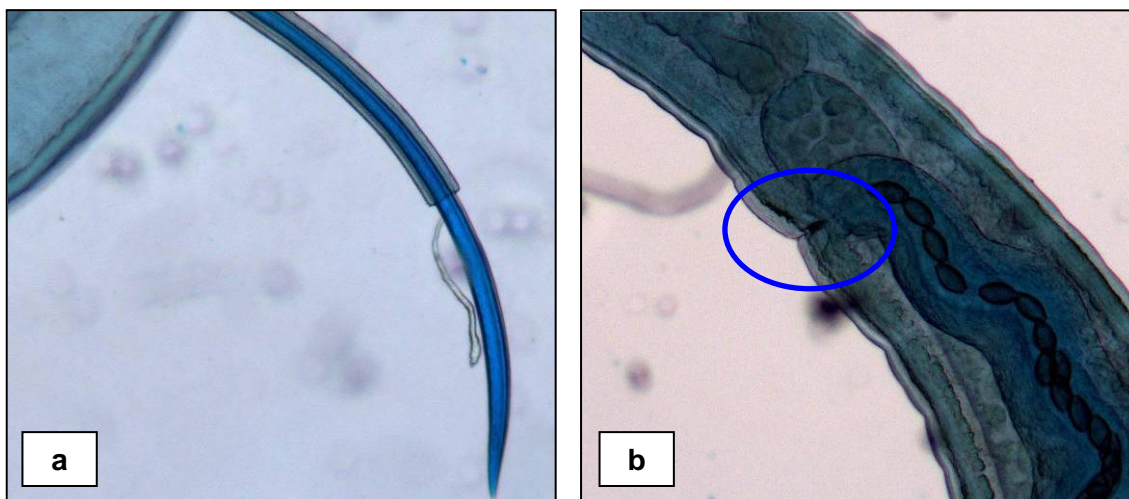


Foto 23.- Detalle del macho de *Trichuris capreoli* donde se observa la larga vaina que recubre a la espícula terminada en “punta”(a). La hembra presenta una vulva sin estructuras externas (b).

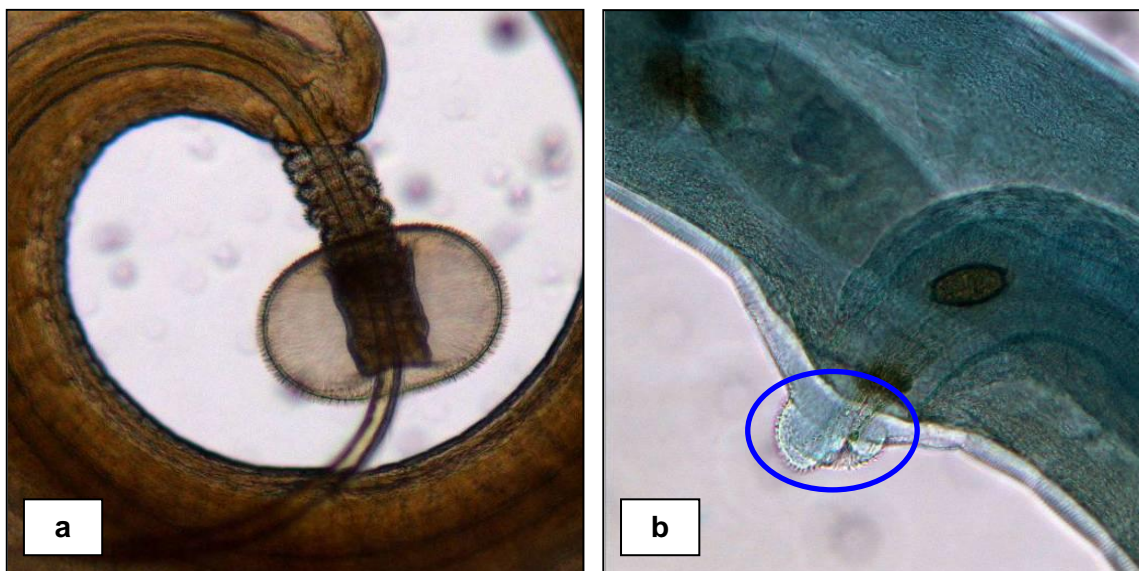


Foto 24- Macho de *Trichuris ovis*: vaina tubular y cilíndrica con expansión en forma de “bombilla” cubierta de espinas (a). Hembra: vulva con dos labios con espinas en disposición no definida (b).

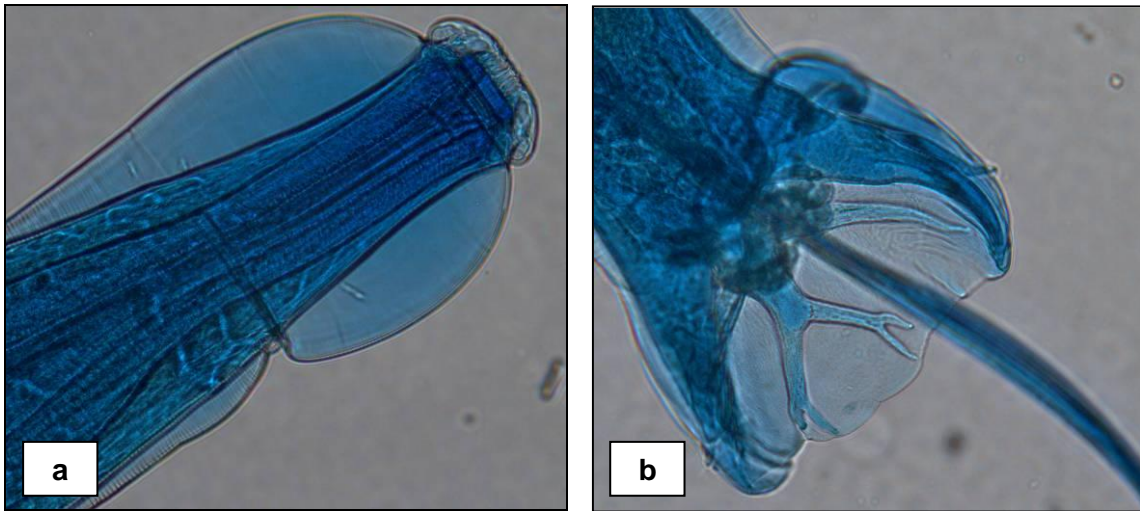


Foto 25- Extremo anterior de *O. venulosum* se aprecia la pequeña hendidura transversal (a). Bolsa copulatrix: característica costilla dorsal bifurcada (b).



Foto 26.- *Chabertia ovina*: cápsula bucal en posición anteroventral.

Se identificaron 4 especies, siendo las más frecuentes (Figura 91) *T. capreoli* y *O. venulosum* y en menor proporción se hallaron *T. ovis* y *Ch. ovina*.

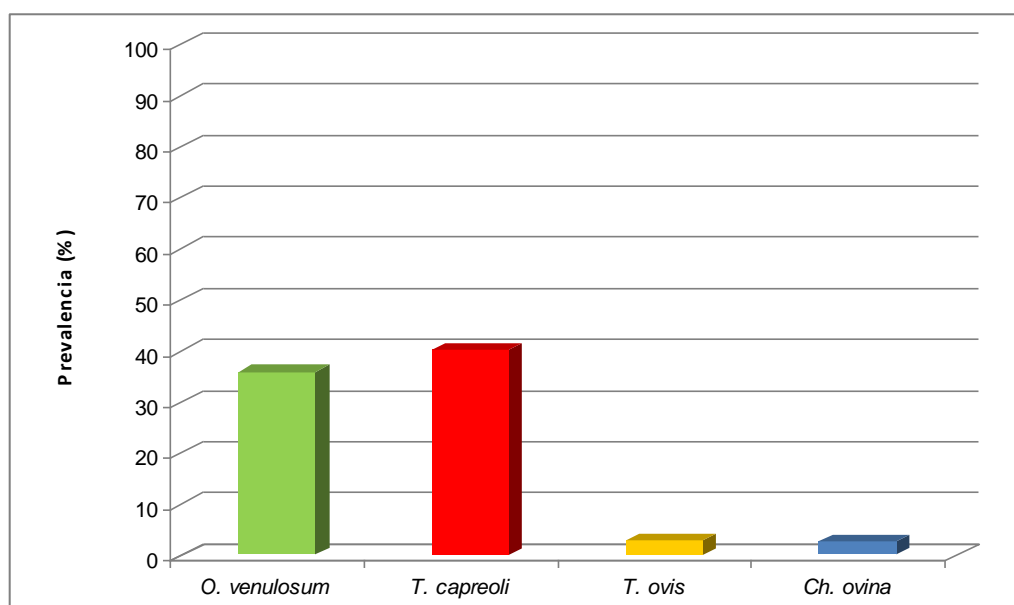


Figura 91.- Prevalencia de las especies de nematodos identificadas en el intestino grueso.

Nuestros resultados coinciden, en general, con los observados por nosotros en estudios previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) pero, difieren de los hallados por otros autores; Borgsteede *et al.* (1990), en corzos abatidos en Holanda, identificaron *Trichuris ovis* como la especie más prevalente (49%), mientras que *O. venulosum* sólo se encontró en el 13% de los animales estudiados. En Alemania, Rehbein *et al.* (2000) hallaron un porcentaje muy elevado de *O. venulosum* (50%), aunque la especie más abundante fue *Trichuris globulosa* (67,2%), no observada en los corzos estudiados en este trabajo.

Por el contrario, la reducida prevalencia de *Chabertia ovina* coincide con la señalada por Borgsteede *et al.* (1990) en corzos de Holanda (2%), con la hallada por Aguirre *et al.* (1999) en Suecia (3%) y con la observada en Galicia (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b); por el contrario, en Bielorrusia Kochko (1997) señala a *Chabertia ovina* como la especie más prevalente (73,1%) en el intestino grueso de los corzos

Al comparar las especies halladas en el intestino grueso de los corzos con las señaladas en **ganado ovino**, observamos que las especies comunes

en estas 2 especies de rumiantes fueron: *Trichuris ovis*, *Oesophagostomum venulosum* y *Chabertia ovina*, especies descritas en ovejas en pastoreo en el valle del Ebro por Uriarte *et al.* (2003) y en ovinos explotados en Galicia (Pedreira, 2006).

Al relacionar las especies halladas en los corzos con las señaladas en ganado vacuno, Uriarte *et al.* (1982) identificó *Trichuris ovis* y posteriormente, en vacas en pastoreo en el Pirineo aragonés, Almería *et al.* (2000) destaca la presencia de *Chabertia ovina*, concluyendo que el ganado vacuno pudo infectarse probablemente al compartir los pastos con los ciervos, ya que en esa zona hacía varios años que no pastaba ganado ovino, hipótesis posteriormente formulada también por Hoberg *et al.* (2001) quienes indican que los rumiantes silvestres posiblemente se infectan al utilizar pastos comunes con los rumiantes domésticos, como los bovinos y los ovinos.

En la Tabla 20 se especifica la intensidad y el rango de infección de cada una de las especies halladas, estas cifras fueron similares para las 4 especies y se puede considerar que la intensidad de infección en todos los casos fue baja.

	INTENSIDAD	RANGO
<i>O. venulosum</i>	2±2	1-12
<i>T. capreoli</i>	2±1	1-11
<i>T. ovis</i>	1±0	1-1
<i>Chabertia ovina</i>	1±1	1-3

Tabla 20.- Intensidad y rango de infección de las 4 especies halladas en intestino grueso.

Al considerar las asociaciones de las especies de nematodos identificadas en el intestino grueso, se apreció que la mayoría de los corzos presentaban únicamente una sola especie (Figura 92), mientras que las infecciones dobles y triples constituyeron el 36,6% y el 2,4% del total,

respectivamente; estos resultados son similares a los observados en estudios previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a).

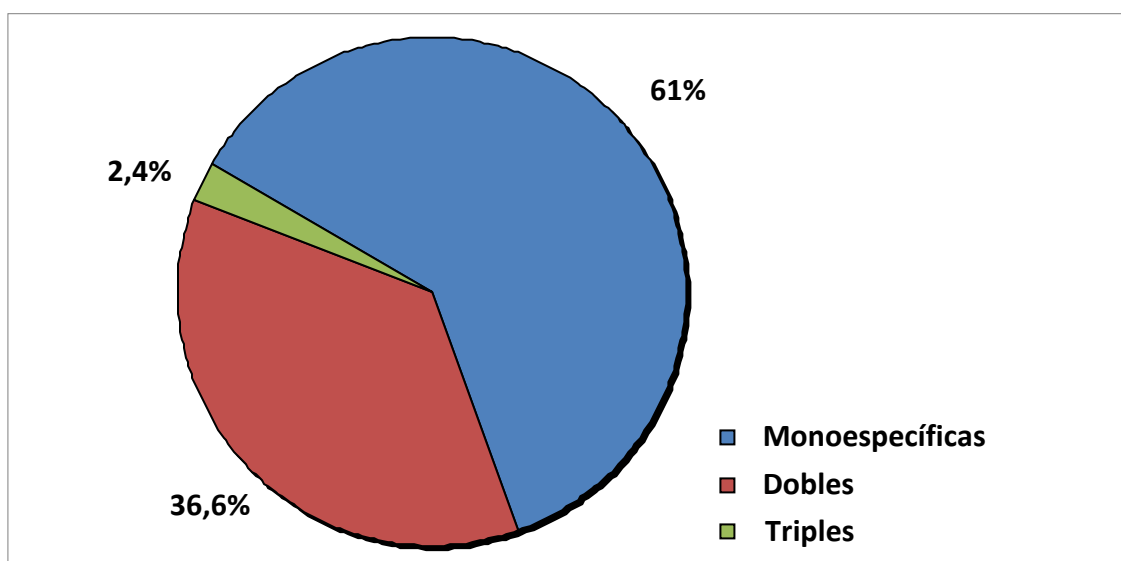


Figura 92.- Tipos de asociaciones halladas en el intestino grueso.

En la Tabla 21, se observa que la infección monoespecífica más predominante fue la de *T. capreoli*; dentro de las dobles la combinación más frecuente fue la integrada por *O. venulosum* y *T. capreoli*.

ASOCIACIONES	ESPECIES *	%
TRIPLES	<i>O. venulosum</i> + <i>T. capreoli</i> + <i>T. ovis</i>	2,4
DOBLES	<i>O. venulosum</i> + <i>T. capreoli</i>	34,2
	<i>T. capreoli</i> + <i>Ch. ovina</i>	0,8
	<i>O. venulosum</i> + <i>T. ovis</i>	0,8
	<i>T. ovis</i> + <i>Ch. ovina</i>	0,8
MONOESPECÍFICAS	<i>T. capreoli</i>	32,6
	<i>O. venulosum</i>	25,2
	<i>Ch. ovina</i>	2,4
	<i>T. ovis</i>	0,8

Tabla 21.- Prevalencias de las distintas asociaciones halladas en el intestino grueso.

4.1.2.1.4.- En ciego

En el 53,5% de los ciegos se hallaron nematodos gastrointestinales y su número osciló entre 1 y 18 ($\bar{x} = 3 \pm 3$), siendo la prevalencia e intensidad de infección similar a la hallada en el intestino grueso, pero claramente inferior a la observada en el abomaso y en el intestino delgado; lo que coincide con lo observado por nosotros (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) en estudio previos en los que analizamos menor número de corzos.

Solo se hallaron 2 géneros, *Oesophagostomum* (36%) y *Trichuris* (33,2%). Estos resultados son similares a los hallados en corzos abatidos en diferentes países europeos por otros autores (Vetýška, 1980; Díez-Baños *et al.*, 1990; Kochko, 1997; Balicka-Ramisz *et al.*, 2003; Pilarczyk *et al.*, 2005; Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b).

Como en los trabajos anteriores (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b) se identificaron 3 especies, siendo las más prevalentes *O. venulosum* y *T. capreoli* (Figura 93). Por el contrario, Balicka-Ramisz *et al.* (2003) sólo identificaron *T. ovis* en el ciego de corzos abatidos en Polonia.

La prevalencia de *Trichuris ovis* hallada en este estudio fue netamente inferior a la obtenida (33%) por Ramajo *et al.* (2007) en corzos abatidos en la provincia de Salamanca.

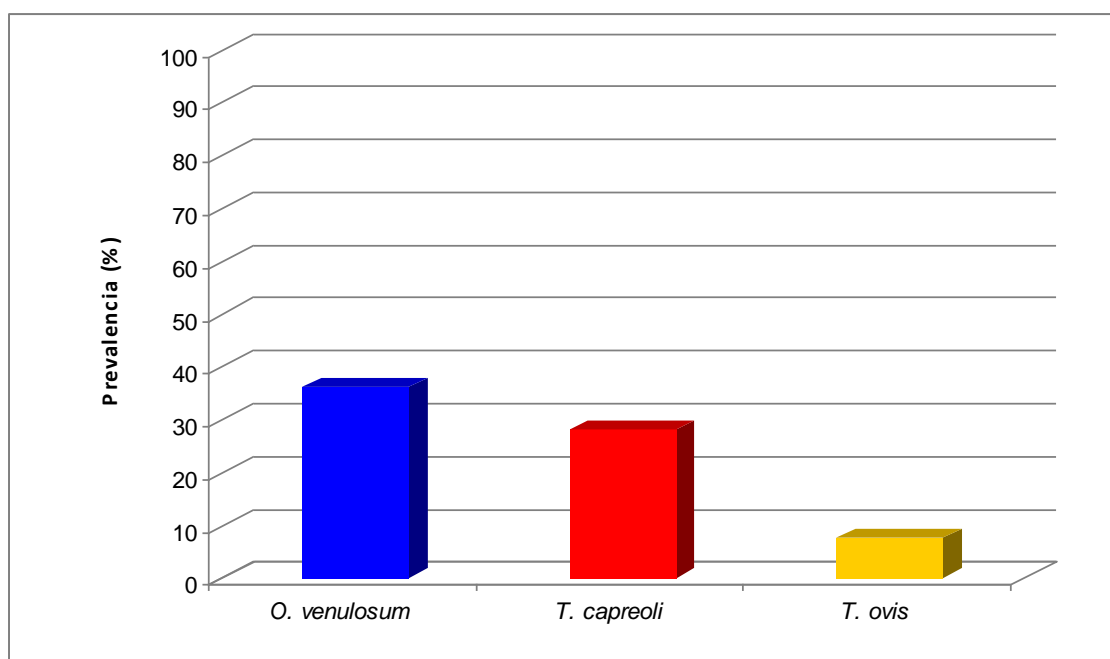


Figura 93.- Prevalencia de las especies de nematodos identificadas en el ciego.

En la Tabla 22, se especifica el rango y la intensidad de infección de cada una de las especies halladas, presentando todos ellos cifras similares que pueden considerarse bajas y coinciden con las observadas previamente por nosotros (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b). Por el contrario, en corzos de la provincia de Salamanca, Ramajo *et al.* (2007) hallaron mayor número de adultos ($\bar{x} = 50$) de *Trichuris ovis*.

	INTENSIDAD	RANGO
<i>O. venulosum</i>	3±3	1-16
<i>T. capreoli</i>	2±1	1-6
<i>T. ovis</i>	2±2	1-10

Tabla 22.- Intensidad y rango de infección de las 3 especies halladas en el ciego.

Diversos autores (Prestwood y Pursglove, 1981; Hoberg *et al.*, 2001) afirman que la prevalencia e intensidad de infección por *O. venulosum* o por

otras especies de este género de nematodos gastrointestinales son, por lo general, reducidas en animales silvestres.

En la Figura 94 se muestran los porcentajes de animales infectados según el número de especies presentes en el ciego, siendo las infecciones monoespecíficas las más frecuentes, y en menor proporción se hallaron las dobles y las triples.

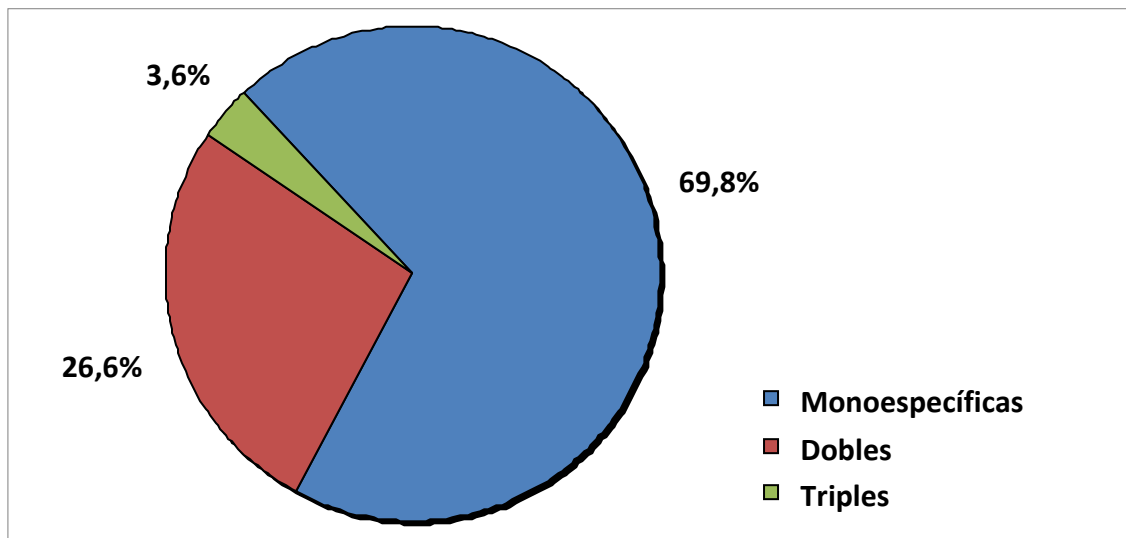


Figura 94.- Tipos de asociaciones específicas halladas en el ciego.

En la Tabla 23, se observa que, como sucedió en el intestino delgado y en el grueso, las infecciones monoespecíficas fueron las más frecuentes, siendo *O. venulosum* la más prevalente y dentro de las dobles predominó la integrada por *O. venulosum* y *T. capreoli*; estos resultados son similares a los hallados (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 b) previamente en un menor número de corzos abatidos en Galicia.

ASOCIACIONES	ESPECIES *	%
TRIPLES	<i>O. venulosum</i> + <i>T. capreoli</i> + <i>T. ovis</i>	3,6
DOBLES	<i>O. venulosum</i> + <i>T. capreoli</i>	21,3
	<i>O. venulosum</i> + <i>T. ovis</i>	4,4
	<i>T. cap</i> + <i>T. ovis</i>	0,9
MONOESPECÍFICAS	<i>O. venulosum</i>	38
	<i>T. capreoli</i>	26,5
	<i>T. ovis</i>	5,3

Tabla 23.- Prevalencias de las distintas asociaciones específicas halladas en el ciego.

4.1.2.1.5. Distribución de las especies en los distintos tramos del tracto gastrointestinal

En la Tabla 24 se resume la distribución, porcentaje e intensidad media de infección, de las especies de nematodos gastrointestinales halladas al considerar su localización en el aparato digestivo.

Como se indicó en los correspondientes apartados, en abomaso predominaron *O. leptospicularis*, *S. spiculoptera* y *T. axei*; además, aunque la prevalencia de infección fue baja, se observaron cifras medias elevadas de *T. vitrinus* y *N. filicollis*. En intestino delgado las especies más frecuentes fueron *N. filicollis*, *S. spiculoptera* y *O. leptospicularis* y en intestino grueso y ciego predominaron *T. capreoli* y *O. venulosum*, aunque con bajas intensidades de infección.

Al analizar en conjunto estos resultados, resultó que las especies de nematodos gastrointestinales más prevalentes y con mayor intensidad de infección en los corzos fueron: *O. leptospicularis*, *S. spiculoptera* y *N. filicollis*, seguidas de *T. vitrinus* y *T. axei*.

ESPECIES	Abomaso		Intestino delgado		Intestino grueso		Ciego	
	%	\bar{x}	%	\bar{x}	%	\bar{x}	%	\bar{x}
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	6,6	28±30	-	-	-	-	-	-
<i>Tel. trifurcata</i>	0,5	21±0	-	-	-	-	-	-
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	98,6	383±406	18,3	52±194	-	-	-	-
<i>O. kolchida</i>	88,2	59±89	4,8	10±5	-	-	-	-
<i>Spiculoptera spiculoptera</i>	96,2	483±349	21,6	33±64	-	-	-	-
<i>S. mathevossiani</i>	55,9	25±32	1,9	11±7	-	-	-	-
<i>Trichostrongylus axei</i>	25,6	119±219	3,4	22±16	-	-	-	-
<i>T. vitrinus</i>	2,4	350±474	3,4	11±7	-	-	-	-
<i>T. capricola</i>	1,4	28±40	1,9	97±154	-	-	-	-
<i>T. colubriformis</i>	0,9	13±10	2,4	26±26	-	-	-	-
<i>Haemonchus contortus</i>	1,4	6±3	-	-	-	-	-	-
<i>Nematodirus filicollis</i>	2,8	200±435	65,4	191±871	-	-	-	-
<i>N. spathiger</i>	-	-	2,4	8±4	-	-	-	-
<i>Cooperia oncophora</i>	-	-	1,0	9±7	-	-	-	-
<i>C. pectinata</i>	-	-	0,5	31±31	-	-	-	-
<i>C. punctata</i>	-	-	1,0	12±9	-	-	-	-
<i>Trichuris capreoli</i>	-	-	-	-	40,0	2±1	28,0	2±1
<i>Tr. ovis</i>	-	-	-	-	2,8	1±0	7,6	2±2
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	-	-	-	-	35,8	2±2	36,0	3±3
<i>Chabertia ovina</i>	-	-	-	-	2,3	1±1	-	-

Tabla 24.- Porcentaje de las especies de nematodos gastrointestinales halladas en los distintos tramos del aparato digestivo de los corzos.

La mayoría de las especies se localizaron en abomaso o en intestino delgado, siendo comunes a ambos: *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S. spiculoptera*, *S. mathevossiani*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *T. vitrinus*, *T. capricola* y *N. filicollis*. En intestino grueso y ciego se hallaron 4 especies diferentes y fueron comunes a ambos tramos 3 de ellas: *T. capreoli*, *T. ovis* y *O. venulosum*. Estos resultados coinciden, en general, con los hallados (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011 a, b).

En relación a los polimorfismos, para el género *Spiculopteragia* nuestros datos coinciden con los descritos por Liénard *et al.* (2006) quienes identificaron molecularmente *Spiculopteragia mathevossiani* como morfotipo minoritario de *Spiculopteragia spiculoptera* (mayoritario) y hallaron una mayor prevalencia y cuantía de la segunda con respecto a la primera. No obstante, en el caso de la dupla *Ostertagia leptospicularis* / *Ostertagia kolchida* nuestros resultados no se ajustan tanto al obtener prevalencias similares en ambas, por lo que no predomina el morfotipo mayoritario (*Ostertagia leptospicularis*) como sería de esperar; no obstante, en estudios anteriores (Pato, 2010) habíamos observado resultados parecidos en relación con las dos duplas.

Con respecto al género *Teladorsagia*, diversos autores (Daskalov *et al.*, 1980; Durette-Desset, 1983 y Cabaret *et al.*, 1984) identificaron *T. circumcincta* como morfotipo mayoritario en relación a *T. trifurcata* (minoritario) y siempre en menor proporción, lo que coincide con lo observado en el presente estudio y en otro anterior (Pato, 2010).

En corzos abatidos en España, es la primera vez que se citan las especies: *Teladorsagia trifurcata*, *Trichostrongylus vitrinus*, *T. capricola*, *T. colubriformis*, *Haemonchus contortus*, *Nematodirus spathiger*, *Cooperia oncophora*, *C. pectinata*, *C. punctata*, *Trichuris capreoli*, *Oesophagostomum venulosum* y *Chabertia ovina*. Por el contrario, en este estudio no hemos hallado: *Teladorsagia davtiani*, *Ostertagia ostertagi*, *O. occidentalis*, *Spiculopteragia asymmetrica* y *Nematodirus europaeus* especies halladas por otros autores en diferentes regiones españolas (Díez-Baños *et al.*, 1990, 1995, 1996; Navarrete *et al.*, 1990; Reina *et al.*, 1992; Ramajo *et al.*, 2007;)

4.1.2.2. Al considerar la zona de procedencia de los corzos

Los géneros más prevalentes en los animales abatidos en las 3 zonas de estudio (Tabla 25) fueron *Spiculopteragia* y *Ostertagia*. Además, en los procedentes de la Costa se observó un elevado porcentaje de *Trichuris* y *Oesophagostomum*, en los del Centro de *Nematodirus* y *Trichuris* y en los de la

Montaña de *Nematodirus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris*. No obstante, con Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias eran únicamente significativas para *Spiculopteragia* ($X^2= 7,035$; $p= 0,030$), *Oesophagostomum* ($X^2= 8,827$; $p= 0,012$) y *Trichuris* ($X^2= 6,339$; $p= 0,042$). Por el contrario, en muestras de heces de corzos abatidos en dos zonas diferentes de Galicia, una montañosa y otra más llana y próxima a zonas de cultivos agrícolas, Vázquez *et al.* (2009 b), comprobaron que los corzos procedentes de las zonas más cercanas a las tierras agrícolas eliminaban mayor número de hpg que los abatidos en la Montaña.

La falta de diferencias estadísticas entre la prevalencia de los géneros y la zona de procedencia de las muestras observada, en general, en este estudio coincide con la señalada en ganado ovino, por Díez-Baños *et al.* (1992), quienes concluyeron que son las interacciones interespecíficas las que más influyen sobre la prevalencia e intensidad de los nematodos gastrointestinales en ovinos en pastoreo, mientras que el área de procedencia y la edad no influyen directamente sobre dichas interacciones.

Sin embargo, al analizar con más detalle nuestros resultados se observó que en los corzos abatidos en la Costa, la prevalencia de infección de la mayoría de los géneros fue superior a la hallada en las otras 2 zonas, lo que coincide con lo observado por nosotros en estudios previos (Pato, 2010; Pato *et al.*, 2011, c). Además, en esta zona se registran las condiciones más favorables de temperatura y humedad, que son decisivas para el desarrollo y la supervivencia de la mayoría de las larvas infectantes (Rojo *et al.*, 1997; Meana y Rojo, 1999; Uriarte *et al.*, 2003). Asimismo, mediante *odds-ratio* y como se señaló en el correspondiente apartado de Materiales y Métodos, se considera que existe riesgo de infección cuando el valor de OR es superior a 1 y el límite inferior del intervalo de confianza también es mayor de 1; por lo que como se resume en la Tabla 25, se observó que los corzos de la Costa tenían un mayor riesgo de infección por *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris*. Estos resultados coinciden, en general, con los hallados en un estudio preliminar en el que analizamos menor número de corzos (Pato, 2010).

	COSTA		CENTRO		MONTAÑA	
	%	OR	%	OR	%	OR
<i>Nematodirus</i>	60,0	0,9 (0,4-1,7)	58,6	0,7 (0,4-1,2)	70,3	1,6 (0,9-3,0)
<i>Teladorsagia</i>	2,3	0,3 (0,04-2,2)	8,4	1,7 (0,6-5,0)	6,9	1,1 (0,3-3,3)
<i>Ostertagia</i>	97,8	2,1 (0,3-17,5)	94,9	0,7 (0,2-2,5)	95,9	1,0 (0,3-4,2)
<i>Spiculopteragia</i>	100,0	-	96,0	1,7 (0,5-5,9)	89,2	0,2 (0,07-0,8)
<i>Trichostrongylus</i>	44,4	2,0* (1,01-3,9)	29,3	0,8 (0,4-1,4)	28,4	0,8 (0,4-1,4)
<i>Haemonchus</i>	2,3	1,9 (0,2-21,6)	2,1	2,5 (0,2-27,7)	0	-
<i>Cooperia</i>	2,3	1,3 (0,1-12,8)	3,2	3,8 (0,4-37,1)	0	-
<i>Oesophagostomum</i>	62,2	2,0* (1,01-3,8)	38,4	0,5 (0,3-0,8)	55,4	1,5 (0,8-2,6)
<i>Trichuris</i>	68,9	2,2* (1,1-4,4)	46,5	0,6 (0,3-0,9)	55,4	1,1 (0,6-1,9)
<i>Chabertia</i>	2,3	1,0 (0,1-9,0)	3,2	1,9 (0,3-11,4)	1,4	0,5 (0,05-4,2)

Tabla 25.- Prevalencia de los diferentes géneros y valores *odds-ratio* al considerar la zona de procedencia de los corzos.

Respecto al predominio de *Nematodirus* en los corzos de la Montaña, puede deberse a que para que las L-III eclosionen del interior de los huevos, necesitan que hayan estado sometidos a bajas temperaturas y ésta, posteriormente, se incrementa (del Valle *et al.*, 1978) lo que sucede con mayor intensidad en la Montaña. La mayor prevalencia de este género en corzos abatidos en las zonas montañosas de Galicia ya la habíamos observado en estudios previos (Pato, 2010).

La ausencia de *Haemonchus* en los corzos procedentes de la Montaña, probablemente se debe a que en esta zona se registran temperaturas inferiores a las de la Costa y Centro; además, el número de días en que hay temperaturas por encima de 18° C es menor en la Montaña (70) que en el Centro (185) y en la Costa (158), lo que podría explicar la ausencia de *Haemonchus* en los corzos de la Montaña, debido al efecto conocido como "Dinaburg line" que según Dinaburg (1944) el número de larvas de *Haemonchus* que se desarrollan por debajo de 18° C es muy bajo. Estos resultados confirman los hallados previamente (Pato, 2010) en los que tampoco habíamos observado *Haemonchus* en los corzos abatidos en la Montaña, pero en ese trabajo no habíamos hallado este género en los corzos procedentes de la Costa, probablemente debido a que el número de animales que habíamos examinado era mucho menor que el del presente estudio.

	COSTA	CENTRO	MONTAÑA
TOTAL	1199±1125	936±759	1167±1225
<i>Nematodirus</i>	199±369	107±118	302±1385
<i>Teladorsagia</i>	8±0	12±10	62±37
<i>Ostertagia</i>	540±583	397±529	444±350
<i>Spiculopteragia</i>	507±473	462±319	542±360
<i>Trichostrongylus</i>	158±288	104±166	134±318
<i>Haemonchus</i>	1±0	1±0	-
<i>Cooperia</i>	6±0	23±24	-
<i>Oesophagostomum</i>	7±5	6±7	5±4
<i>Trichuris</i>	3±4	2±2	2±2
<i>Chabertia</i>	2±0	2±1	1±0

Tabla 26.- Intensidad de parasitación total y de los diferentes géneros según la zona de procedencia.

En relación a la intensidad de infección de los distintos géneros, como puede observarse en la Tabla 26, ésta fue muy variable en los corzos abatidos las diferentes zonas; además, en la mayoría de los casos, las desviaciones estándar fueron muy elevadas lo que significa que existe una gran dispersión en el número de ejemplares hallados. Con ANOVA se constó que, excepto para *Teladorsagia* ($F= 6,716$; $p= 0,012$), no existían diferencias significativas entre los géneros al considerar la zona de procedencia, lo que coincide, con lo observado previamente por nosotros (Pato, 2010) y, en general, con lo señalado por Díez-Baños *et al.* (1992), en ganado ovino.

4.1.1.3. Al tener en cuenta la edad de los corzos

Al relacionar la prevalencia de infección de los diferentes géneros con la edad de los corzos (Tabla 27) se observó que, en general, en los de mayor edad el porcentaje de infección de la mayoría de los géneros era superior que en los más jóvenes. Sin embargo, mediante Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias no eran significativas; lo que coincide con lo observado en un estudio previo (Pato, 2010). Además, con *odds ratio* no se constató que existiese un mayor riesgo de infección por los distintos géneros al tener en cuenta la edad de los animales.

	JÓVENES		ADULTOS	
	%	OR	%	OR
<i>Nematodirus</i>	56,7	0,7(0,3-1,6)	63,8	1,3 (0,6-2,9)
<i>Teladorsagia</i>	13,3	2,6 (0,8-9,0)	5,5	0,4 (0,1-1,3)
<i>Ostertagia</i>	100	-	95,2	-
<i>Spiculopteragia</i>	93,3	0,8 (0,2-3,8)	94,7	1,3 (0,3-6,1)
<i>Trichostrongylus</i>	26,7	0,7 (0,3-1,8)	33	1,4 (0,6-3,2)
<i>Haemonchus</i>	3,3	3,1 (0,3-35,1)	1,1	0,3 (0,03-3,7)
<i>Cooperia</i>	3,6	2,2 (0,2-22,0)	1,6	0,5 (0,05-4,5)
<i>Oesophagostomum</i>	46,7	0,9 (0,4-1,9)	49,5	1,1 (0,5-2,4)
<i>Trichuris</i>	46,7	0,7 (0,3-1,5)	55,3	1,4 (0,7-3,1)
<i>Chabertia</i>	3,7	1,7 (0,2-16,1)	2,2	0,6 (0,06-5,4)

Tabla 27.- Prevalencia de los diferentes géneros y valores *odds-ratio* al considerar la edad de los corzos.

Por el contrario, en los exámenes coprológicos tanto de corzos (Vázquez *et al.*, 2009 c) como de rumiantes domésticos (Cornejo *et al.*, 1986; Díez-Baños, 1989; Scala *et al.*, 2001 y Díaz *et al.*, 2005) observaron que existe una correlación negativa entre la edad y el porcentaje de animales que eliminan huevos de nematodos gastrointestinales.

Respecto a la intensidad de infección, como puede observarse en la Tabla 28, en general, fue superior en los animales de mayor edad, excepto para *Nematodirus* y *Trichuris*, donde fue ligeramente superior en los más jóvenes. No obstante, con ANOVA únicamente se constataron diferencias significativas en el caso de *Trichuris*. Estos resultados ya habían sido observados por nosotros (Pato, 2010; Díez-Baños, *et al.*, 2010) en estudios previos.

	JOVENES	ADULTOS
TOTAL	1235±1747	1044±852
<i>Nematodirus</i>	675±2409	131±223
<i>Teladorsagia</i>	12±12	36±37
<i>Ostertagia</i>	364±247	456±518
<i>Spiculopteragia</i>	483±326	500±374
<i>Trichostrongylus</i>	119±184	130±261
<i>Haemonchus</i>	1±0	1±0
<i>Cooperia</i>	4±0	23±23
<i>Oesophagostomum</i>	4±2	6±5
<i>Trichuris</i>	4±2	2±3
<i>Chabertia</i>	1±0	2±1

Tabla 28.- Intensidad total de parasitación y de los diferentes géneros al considerar la edad de los animales.

Asimismo, estos resultados coinciden con los hallados por Díez-Baños (1989) en ganado ovino sacrificado en un matadero de León, puesto que comprobó mayor intensidad de infección en los adultos que en los menores de un año.

4.1.1.4. Al considerar el sexo

Al relacionar los porcentajes de los diferentes géneros hallados (Tabla 29) con el sexo de los animales, se observó que, en general, los machos eran los que presentaban mayor prevalencia de infección. Sin embargo, mediante Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias solo eran significativas para *Nematodirus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris*. Además, al tener en cuenta los valores *odds-ratio* se observó que los machos presentaban mayor riesgo de infección por estos 3 géneros que las hembras.

	MACHOS		HEMBRAS	
	%	OR	%	OR
<i>Nematodirus</i>	65,8	2,3* (1,1-5,0)	45,2	0,4 (0,2-0,9)
<i>Teladorsagia</i>	7,7	-	0	-
<i>Ostertagia</i>	96,3	1,7 (0,4-9,0)	93,5	0,6 (0,1-2,8)
<i>Spiculoptera</i>	95,7	3,3 (0,9-11,8)	87,1	0,3 (0,09-1,1)
<i>Trichostrongylus</i>	34,2	2,2 (0,8-5,6)	19,4	0,4 (0,2-1,2)
<i>Haemonchus</i>	1,6	-	0	-
<i>Cooperia</i>	1,7	0,5 (0,04-4,9)	3,3	2,0 (0,2-20,2)
<i>Oesophagostomum</i>	52,4	2,7* (1,2-6,2)	29,6	0,4 (0,2-0,9)
<i>Trichuris</i>	59,4	5,0* (2,1-12,2)	22,6	0,2 (0,08-0,5)
<i>Chabertia</i>	2,2	0,6 (0,07-5,8)	3,4	1,6 (0,2-14,7)

Tabla 29.- Prevalencia de los diferentes géneros y valores *odds-ratio* al considerar el sexo de los corzos.

Respecto a la intensidad de infección (Tabla 30) fue ligeramente superior en las hembras; no obstante, con ANOVA se constató que estas diferencias no eran significativas. Sin embargo, la intensidad de *Nematodirus*, que fue el género que presentó mayor intensidad de infección, fue netamente superior en las hembras y con ANOVA ($F= 4,643$; $p= 0,032$) se comprobó que en este caso las diferencias eran significativas.

	MACHOS	HEMBRAS
TOTAL	1059±834	1144±1835
<i>Nematodirus</i>	123±192	863±2657
<i>Teladorsagia</i>	29±33	-
<i>Ostertagia</i>	458±509	350±339
<i>Spiculopteragia</i>	513±368	391±348
<i>Trichostrongylus</i>	130±257	109±214
<i>Haemonchus</i>	1±0	-
<i>Cooperia</i>	8±6	49±0
<i>Oesophagostomum</i>	6±5	2±0
<i>Trichuris</i>	3±3	2±1
<i>Chabertia</i>	2±1	1±0

Tabla 30.- Intensidad total de parasitación y de los diferentes géneros al considerar el sexo de los animales.

Finalmente, señalar que en las infecciones por nematodos broncopulmonares ya habíamos constatado que en los machos existía mayor prevalencia y riesgo de infección que en las hembras; sin embargo, y al igual que ocurre con *Nematodirus*, fueron estas últimas las que presentaron mayor número de L-I de *Dictyocaulus* en los pulmones.

4.2. Agentes infecciosos

4.2.1. Prevalencia de infección por *Mycobacterium bovis*

En el presente trabajo no se hallaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis en los pulmones y/ nódulos linfáticos asociados de los corzos estudiados. Del mismo modo, en ningún caso se identificaron bacterias ácido-alcohol resistentes con la tinción Ziehl-Neelsen ni crecimiento bacteriano en los aislamientos realizados.

Estos resultados coinciden con los señalados en la mayoría de los estudios sobre la tuberculosis en corzos en Europa. Así, la presencia de esta enfermedad en este rumiante silvestre ha sido notificada de manera esporádica por Schmidt (1938), Bouvier (1963), Gunning (1985) y Balseiro *et al.* (2009).

En los trabajos que se han llevado a cabo en el continente europeo para detectar la prevalencia de la enfermedad en poblaciones de estos cérvidos los autores no indicaron una prevalencia superior al 1% en ningún caso (Delahay *et al.*, 2007; Zanella *et al.*, 2008).

Para justificar estos nulos o reducidos valores de prevalencia, los investigadores apuntan a diferentes causas:

La eliminación de animales infectados y vigilancia intensa de esta enfermedad sobre el **ganado doméstico** ha hecho posible la erradicación de la tuberculosis en casi todos los animales en el mundo (Morris *et al.*, 1994) y también en España. A pesar de ello, se ha observado que determinadas poblaciones de animales silvestres, como ciervo o jabalí, anteriormente afectadas esporádicamente, ahora son reservorios (Morris *et al.*, 1994; Perumaalla *et al.*, 1996). Y aunque el corzo ha aumentado mucho su distribución y densidad en la mayoría de las regiones europeas, lo que facilitaría un mayor contacto con los domésticos, la posibilidad de adquirir la

infección sería bastante reducida al tratarse de animales con un estatus sanitario óptimo.

Del mismo modo los autores hacen referencia a las ya comentadas particularidades del corzo respecto a los demás cérvidos en cuanto a su alimentación más selectiva y carácter menos gregario en comparación con otros cérvidos. Estas características conferirían una **menor susceptibilidad** de la especie para adquirir la infección al contacto con las micobacterias. Así, en un trabajo realizado en Francia por Zanella *et al.* (2008) se observó que los ciervos de ese área de estudio presentaron una prevalencia de tuberculosis muy elevada en comparación con la de los corzos que apenas supuso el 1%. Resultados muy parecidos a los obtenidos previamente en Inglaterra por Delahay *et al.* (2007), que también detectaron mayores prevalencias en otros rumiantes silvestres como los gamos o muntjacs. Los autores sugieren que el corzo es una especie que no juega un papel importante en la transmisión de la tuberculosis y consideran a este animal incluso un huésped secundario de la infección.

Finalmente hay que tener en cuenta que la tuberculosis es un proceso que se ha estudiado poco en la fauna silvestre de nuestro país y el corzo no es una excepción. Si bien estas bajas o nulas prevalencias y las **notificaciones esporádicas** de casos en esta especie (Schmidt, 1938; Bouvier, 1963; Gunning, 1985 y Balseiro *et al.*, 2009) nos pueden hacer considerar la idea de que el corzo no representa un reservorio de tuberculosis importante para otras especies de vida silvestre ni para el ganado doméstico.

4.2.2. Prevalencia de infección por *Mycobacterium avium paratuberculosis*

Del mismo modo que para *M. bovis* tampoco se hallaron lesiones macroscópicas o histológicas compatibles con paratuberculosis en las válvulas ileocecales de los corzos estudiados. Asimismo, en ningún caso se identificaron bacterias ácido-alcohol resistentes con características típicas mediante tinción Ziehl-Neelsen ni crecimiento bacteriano en los aislamientos realizados.

Nuestros resultados coinciden con los señalados en la mayoría de los estudios sobre el *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) realizados en rumiantes silvestres en Europa, donde los porcentajes de infección observados oscilaron entre el 0 y el 2,9% (Blancou, 1983; Dedek *et al.*, 1991; Gennero *et al.*, 1993; Aguirre *et al.*, 1999; Pavlik *et al.*, 2000; Gutiérrez, 2000; Machackova *et al.*, 2004). Los valores de prevalencia más elevados en corzos europeos se han señalado en varios estudios realizados en Francia, Italia y Noruega, aunque los porcentajes en ningún caso superaron el 13% (Barrat *et al.*, 1985; Tryland *et al.*, 2004; Robino *et al.*, 2007).

Los autores apuntan a diferentes causas, válidas también para el caso de *M. bovis*, que podrían explicar estos reducidos o nulos valores de prevalencia.

La mayoría de los trabajos consideran al **ganado doméstico** la principal fuente de infección de MAP para los silvestres, sobre todo a través de pastos compartidos (Riemann *et al.*, 1979; Jessup *et al.*, 1981; Blancou, 1983; Pacetti *et al.*, 1994; Pavlik *et al.*, 2000; Marco *et al.*, 2002; Machackova *et al.*, 2004). Además, el reciente incremento en la distribución y la densidad de los corzos en Europa (Acevedo *et al.*, 2005), implica un mayor contacto con el ganado doméstico que podría favorecer el contagio de diferentes enfermedades, entre ellas la paratuberculosis (Gortázar *et al.*, 2007). Considerando estos trabajos y las prevalencias de paratuberculosis señaladas en el ganado doméstico de nuestra Comunidad Autónoma (Diéguez *et al.*, 2007; Viña, comunicación

personal) podrían explicar el hecho de no hallar corzos infectados con el bacilo en el presente estudio.

Por el contrario, Gutiérrez (2000) detectó en la provincia de León reducidos porcentajes de infección por MAP en corzos que compartían pastos con rumiantes domésticos y que presentaban elevadas seroprevalencias de MAP. Teniendo en cuenta la transmisión fecal-oral del agente etiológico y su resistencia en el medio, este trabajo sugiere que la importancia que se había dado a la relación entre los rumiantes domésticos y silvestres es sensiblemente menor a lo esperado, en especial cuando éstos comparten los pastos de forma esporádica.

Otros autores sostienen que el corzo posee una **menor susceptibilidad** a las infecciones que otros cérvidos al tratarse de un animal muy selectivo en cuanto a alimentación y conociéndose que son menos gregarios que otras especies de la familia Cervidae (Mussa *et al.*, 2003; Delahay *et al.*, 2007; Zanella *et al.*, 2008). También hay autores que apuntan a la posibilidad de que incluso no desarrollan **sintomatología clínica** en condiciones naturales y en el caso de sufrir la infección presentar un curso sobreagudo de la misma dificultándose por tanto la observación de estos animales (Gilmour y Nyange, 1989; Goddard, 1994). Por el contrario, la paratuberculosis es una enfermedad relativamente frecuente en rumiantes silvestres explotados en **régimen intensivo** (De Lisle *et al.*, 1993; Pavlik *et al.*, 2000), ya que por lo general aprovechan pastos empleados anteriormente por rumiantes domésticos infectados. El contagio también se ve favorecido por la elevada concentración de animales en cautividad, que además genera estrés y un cierto grado de inmunosupresión, que incrementa las posibilidades de adquirir la infección.

Todas las razones anteriormente expuestas, conjuntamente con el fenómeno de la **selección natural** -que dificulta la observación o captura de animales enfermos-, podrían ser la causa de la ausencia de infección por MAP hallada en los corzos de la Comunidad Gallega. Algo también extrapolable para el caso de *Mycobacterium bovis* citado anteriormente. No obstante, aunque la prevalencia en el ganado doméstico es baja, existen evidencias de que los

rumiantes silvestres pueden actuar como reservorio de paratuberculosis, por lo que es necesario establecer un adecuado plan de vigilancia sanitaria en estos animales (Gennero *et al.*, 1993).

4.2.3. Prevalencia de infección por pestivirus

En nuestro estudio hemos hallado una seroprevalencia de infección frente a pestivirus del 2,9%. Lo que concuerda con la mayoría de los estudios llevados a cabo en Europa en los que los autores señalaron prevalencias nulas o inferiores al 5% (Baradel *et al.*, 1988; Müller y Beier, 1997; Nielsen *et al.*, 2000; Krametter *et al.*, 2004; Riekerink *et al.*, 2005; Gaffuri *et al.*, 2006; Marco *et al.*, 2009; Boadella *et al.*, 2010; Marco *et al.*, 2011).

Para explicar estos bajos o nulos valores de prevalencia, los investigadores apuntan a diferentes causas:

En los rumiantes domésticos es conocido que la transmisión oronasal presenta la mayor relevancia en cuanto a ruta de eliminación de pestivirus (Loken, 1995). Además es conocido que los animales PI constituyen la principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza y son la mayor fuente en el mecanismo de transmisión del mismo al eliminarlos continuamente durante toda su vida en grandes cantidades. Aunque en los cérvidos las rutas no están todavía claras se sospecha que la mayoría son eliminados por secreciones y excreciones corporales (Meyling *et al.*, 1990). Y como ya hemos comentado anteriormente el corzo con respecto a los demás cérvidos es un animal más territorial y no forma rebaños, condiciones que no favorecerían un contacto más estrecho entre animales y por tanto dificultarían la transmisión vírica confiriéndole una **menor posibilidad de adquirir la infección**.

Así en un estudio sobre tres especies de rumiantes silvestres (ciervo, rebeco y corzo), Gutiérrez (2000) observó que la menor seroprevalencia de infección se correspondía al corzo (5,5%) y la mayor al ciervo (24%).

Resultados muy parecidos a los obtenidos por Riekerink *et al.* (2005) y Marco *et al.* (2009; 2011) en sus respectivos estudios en comparación con otras especies como rebecos o ciervos, que sí presentaron mayores prevalencias que el corzo.

Las poblaciones de ganado doméstico presentan elevadas prevalencias por esta enfermedad, considerando que la misma posee una distribución mundial y tiende a ser endémica en la mayoría de los países. A pesar de ello el **comportamiento social y especialmente solitario** de este cérvido (Kraemer, 1969; Bassano *et al.*, 1995), que no favorece el contacto con los domésticos, podría justificar los resultados de los diferentes trabajos. Así, Marco *et al.* (2009) en un estudio sobre la enfermedad en animales domésticos y silvestres observaron prevalencias elevadas en el ganado ovino de la zona pero no detectaron anticuerpos frente a la infección en los corzos analizados.

Como ya hemos comentado anteriormente uno de los mayores riesgos de diseminación de los pestivirus lo constituyen los PI (Bolin, 1990). La existencia de animales con similares características a los conocidos PI domésticos no está del todo clara en el corzo ni en el resto de los rumiantes silvestres. Por lo que de existir en condiciones naturales corzos PI, la supervivencia de los mismos se vería muy reducida al ser víctimas de la **selección natural** (Loken *et al.*, 1995) y por tanto se minimizaría mucho la posibilidad de transmisión vírica al no existir este tipo de animales. Además, en domésticos la existencia de animales PI siempre se halla en correlación con elevadas prevalencias de la enfermedad en las explotaciones. Por lo que las bajas o nulas seroprevalencias observadas en estos animales podrían deberse a la no existencia o reducida presencia de corzos PI en la naturaleza.

Por el contrario, en contraste con estos resultados, trabajos como los de Frolich (1995) o Lillehaug *et al.* (2003) observaron seroprevalencias por encima del 10% en corzos. Estos autores justifican estos resultados con respecto a los demás autores en que los pestivirus sean probablemente endémicos entre los corzos de las zonas de estudio y a que podría tratarse de **cepas en circulación específicas** de cérvidos. La presencia de estos “nuevos” pestivirus

dificultaría la detección por las técnicas actuales, más adaptadas al ganado doméstico, e incluso podrían producirse falsos resultados positivos debido a las reacciones cruzadas inespecíficas.

La prevalencia de las **tres enfermedades** estudiadas en los corzos de nuestra Comunidad es baja o nula, lo que coincide con los resultados de la mayoría de trabajos sobre este rumiante silvestre que existen en Europa.

Teniendo en cuenta todo ésto, y a pesar del incremento de la densidad de este rumiante silvestre en los últimos años en Galicia, podemos decir que el corzo no parece que este actuando como un reservorio de las enfermedades de etiología infecciosa estudiadas para el ganado doméstico de esta Comunidad. Y nos hace pensar que por el momento, este rumiante silvestre no constituye una fuente relevante para la propagación y contagio de las enfermedades, quedando este papel principalmente ligado a la cabaña ganadera. Entendiendo que las bajas o nulas prevalencias observadas en este trabajo para el corzo, es más probable que sean debidas al contacto con el ganado doméstico y/o quizás también a las características más propias de este cérvido ya citadas anteriormente.

5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo hemos llegado a las siguientes **CONCLUSIONES**:

1ª.- En el aparato respiratorio de los corzos no se observaron lesiones macroscópicas compatibles con *Mycobacterium bovis* y tampoco se detectó este patógeno mediante aislamiento y tinción BAAR. Sin embargo, un moderado porcentaje de animales estaban infectados por *Varestrongylus capreoli* y *Dictyocaulus noerneri*, nematodos broncopulmonares específicos del corzo, aunque la intensidad de infección en ambos casos fue baja.

2ª.- Todos los animales albergaban adultos de nematodos gastrointestinales, siendo la intensidad de infección moderada. Se detectó una escasa seroprevalencia de infección por pestivirus y no se aisló ni se observaron lesiones macroscópicas ni histológicas compatibles con la infección por *Mycobacterium avium paratuberculosis*.

3ª.- Se identificaron 20 especies de nematodos gastrointestinales y la mayoría se localizaron en abomaso (12) o en intestino delgado (13). En ambos tramos se hallaron 9 especies comunes: *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia kolchida*, *Spiculopteragia spiculoptera*, *Spiculopteragia mathevossiani*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus capricola*, *Trichostrongylus colubriformis* y *Nematodirus filicollis*. Además, en abomaso, se hallaron *Teladorsagia circumcincta*, *Teladorsagia trifurcata* y *Haemonchus contortus*; mientras que en intestino delgado también se identificaron *Nematodirus spathiger*, *Cooperia oncophora*, *Cooperia pectinata* y *Cooperia punctata*. En ciego se observaron 3 especies: *Trichuris capreoli*, *Trichuris ovis* y *Oesophagostomum venulosum* y en intestino grueso, además de estas 3 especies se identificó también *Chabertia ovina*.

4ª.- En corzos abatidos en España, es la primera vez que se citan las especies: *Teladorsagia trifurcata*, *Trichostrongylus vitrinus*, *T. capricola*, *T. colubriformis*, *Haemonchus contortus*, *Nematodirus spathiger*, *Cooperia oncophora*, *C. pectinata*, *C. punctata*, *Trichuris capreoli*, *Oesophagostomum venulosum* y *Chabertia ovina*.

5ª.- La prevalencia e intensidad de infección de las especies de nematodos gastrointestinales varió en relación con su localización en los diferentes tramos del aparato digestivo, obteniéndose los valores más elevados en abomaso e intestino delgado, en los que las especies más frecuentes eran *O. leptospicularis*, *S. spiculoptera* y *N. filicollis*, seguidas de *T. vitrinus* y *T. axei*.

6ª.- Las infecciones monoespecíficas fueron más frecuentes en intestino delgado, intestino grueso y ciego, mientras que en abomaso predominaron las infecciones mixtas integradas por cuatro especies.

7ª.- Los corzos pueden intervenir en la transmisión al ganado ovino y vacuno que comparta pastos con ellos, por un considerable número de especies de nematodos gastrointestinales así como infecciones por pestivirus. Por el contrario, este ungulado silvestre no representa un riesgo de infección por nematodos broncopulmonares de los rumiantes domésticos y no parece serlo tampoco para la tuberculosis o paratuberculosis.

8ª.- Las diferencias edafo-climáticas de las zonas de procedencia de los corzos estudiados, influyen sobre la prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales, siendo, en general, superiores en los animales procedentes de la Costa, donde se registran las condiciones más favorables de temperatura y humedad que propician el desarrollo del ciclo externo de estos nematodos. Por el contrario, no se observó una clara influencia de la zona de procedencia de los animales en las infecciones por nematodos broncopulmonares, lo que probablemente se relaciona con la reducida intensidad de infección hallada.

9ª.- La edad de los corzos parece influir sobre la infección por nematodos broncopulmonares y gastrointestinales. Los de menor edad tuvieron mayor prevalencia e intensidad de infección por *Dictyocaulus*, lo que indicaría cierta protección inmunitaria; por el contrario, en los mayores se observaron prevalencias e intensidades más altas para estos nematodos gastrointestinales.

10^a.- Las diferencias fisiológicas y de comportamiento debidas al sexo de los corzos se reflejan en la infección por nematodos broncopulmonares y gastrointestinales. Los machos mostraron mayor prevalencia de infección por ambos grupos de nematodos, mientras que las hembras presentaron mayor intensidad de parasitación por *Dictyoculus noeneri* y *Nematodirus filicollis*.

6. RESUMEN

En la actualidad, en el noroeste de España, el corzo es el ungulado silvestre con mayor crecimiento demográfico y Galicia es la región española con mayor densidad de corzo. No obstante, en nuestra Comunidad, la densidad de corzos varía de unas provincias a otras, siendo más abundante en Lugo y Ourense y menos en A Coruña y Pontevedra.

Recientemente ha adquirido gran importancia el estudio del estado sanitario de los animales silvestres; en este sentido, desde hace más de dos décadas se están realizando en nuestro laboratorio diferentes trabajos sobre las principales infecciones de etiología parasitaria en corzos abatidos Galicia. Continuando con esta línea de investigación, en este trabajo nos propusimos avanzar en el estudio de las infecciones ocasionadas por nematodos gastrointestinales y broncopulmonares; así como determinar la prevalencia de infección por *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium paratuberculosis* y pestivirus que son los principales agentes infecciosos que se pueden localizar en el aparato respiratorio y pulmonar de estos rumiantes silvestres.

En Galicia, el corzo y el ganado vacuno y ovino explotados en extensivo, frecuentemente, comparten pastos y praderas, por lo que es posible que se produzca el intercambio de ciertas especies parásitas y de algunos agentes infecciosos, por lo que consideramos de interés conocer si el corzo esta infectado por las mismas especies patógenas, con objeto de contribuir al control de las infecciones en este rumiante silvestre y en los domésticos.

La recogida de muestras se realizó gracias a la inestimable colaboración de los cazadores, a los que se les entregó una ficha, en la que anotaban diversos datos relativos al animal y a la zona de captura; así como, el material necesario, convenientemente numerado para identificar las muestras y que consistió en sacos para la recogida de las vísceras y en jeringas y tubos para la toma de muestras de sangre.

Se recogieron 218 muestras de corzos (187 machos y 31 hembras) abatidos, durante las temporadas de caza 2007-2008 y 2008-2009, en diferentes TECORES de Galicia. Los animales se dividieron en 2 grupos según su edad:

jóvenes o menores de 2 años (30 corzos) y adultos (188 animales) con edades comprendidas entre 2 y 8 años. Además, se tuvo en cuenta las condiciones edafo-climatológicas de las zonas de procedencia de los animales (Costa, Centro y Montaña)

Una vez en el laboratorio, se procedió al desuerado de la sangre y este se congeló hasta su análisis. Además, se separaron las diferentes vísceras y órganos y en este trabajo nos centramos en el análisis del aparato respiratorio y digestivo.

Los pulmones se examinaron macroscópicamente y se anotaron en una plantilla la distribución de las lesiones compatibles con bronconeumonías parasitarias o infecciosas. La tráquea y los bronquios principales se abrieron longitudinalmente para obtener los adultos de Dictyocaulidae y se diseccionó el parénquima pulmonar para extraer los de Protostrongylidae. Además, para calcular el número de larvas por gramo de tejido pulmonar (lpg) se realizaron las correspondientes migraciones larvarias con el tejido pulmonar que presentaba lesiones. Para identificar las especies de nematodos broncopulmonares, las larvas de primer estadio (L-I) y los adultos se montaron en lactofenol azul de algodón y se procedió a su identificación.

Para determinar las infecciones por *Mycobacterium bovis* se efectuó su aislamiento y cultivo, principalmente, a partir de pulmón y nódulos linfáticos mediastínicos. Además, se tomaron 3 improntas de cada muestra (nódulo linfático y pulmón), empleando tejido parcialmente afectado en caso de que hubiese lesiones y si no se utilizaron fragmentos de tejido pertenecientes a 3 localizaciones diferentes y en todos los casos se realizó una tinción diferencial mediante la técnica Ziehl-Neelsen.

El aparato digestivo se dividió en cuatro partes (abomaso, intestino delgado, intestino grueso y ciego); para obtener los adultos de los nematodos gastrointestinales presentes en cada uno de estos tramos, se procedió a ligarlos y, posteriormente, su contenido se lavó, se filtró y se conservó en formol al 5 %. Los adultos se extrajeron bajo estereomicroscopio, se contaron,

se separaron por sexos y se montaron en lactofenol-azul de algodón al 0,05 % y se procedió a su identificación específica.

Para determinar la infección por *Mycobacterium avium paratuberculosis* y las posibles lesiones compatibles con este patógeno, se realizaron tres estudios diferentes: aislamiento y cultivo de *MAP* a partir de la válvula ileocecal, tinción Ziehl-Neelsen, como para *M. bovis*, de improntas de la válvula ileocecal y estudio histopatológico; en este último caso, las muestras se fijaron en formol tamponado al 10% durante 24 horas y posterior observación al microscopio a 400 aumentos.

Para detectar la presencia de anticuerpos específicos frente a pestivirus, se empleó un ELISA comercial de competición y la técnica se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

En el **aparato respiratorio** de los corzos, no se hallaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis; tras el cultivo de las muestras de pulmón y nódulos linfáticos mediastínicos no se observó crecimiento de *Mycobacterium bovis* y tampoco se detectó mediante tinción Ziehl-Nielsen. Por el contrario, en el 43% de los corzos hallamos adultos y/o larvas de nematodos broncopulmonares.

En la tráquea y ramificaciones bronquiales, hallamos adultos de *Dictyocaulus noerteri* (= *D. eckerti*) en el 11,4%, siendo la intensidad media de infección de $15,3 \pm 17,2$ ejemplares por animal y, mediante migración larvaria, observamos L-I en el 21,4% de los pulmones y cifras medias de $4,2 \pm 10,7$ lpg. En el 90 % de los corzos se hallaron lesiones macroscópicas en la superficie del pulmón, especialmente en el borde del lóbulo caudal, compatibles con la infección por Protostrongylidae; obtuvimos un escaso número de adultos de *Varestrongylus capreoli* pero, mediante migración larvaria, observamos L-1 de este nematodo en el 37,3% de los pulmones, siendo escaso el número de lpg ($\bar{x} = 3,7 \pm 7,3$). Con Chi-cuadrado se constató que existían diferencias estadísticas ($X^2 = 9,417$; $p < 0,002$) respecto a la prevalencia de infección por L-I

de las 2 especies de nematodos, pero no las hubo al considerar las cifras de lpg (F= 0,980; p= 0,324).

Al considerar las asociaciones de las especies de nematodos presentes en el aparato respiratorio fueron más frecuentes las infecciones monoespecíficas (59,3%), predominando los animales en los que únicamente se identificó *Varestrongylus* (47,7%).

Al relacionar la **zona de procedencia de los corzos** con el porcentaje e intensidad de infección se observó que la prevalencia de *Dictyocaulus* fue superior en los animales procedentes del Centro; por el contrario la prevalencia de *Varestrongylus* fue mayor en los corzos de la Montaña. No obstante, con Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias no eran significativas, lo que se corroboró con los valores de *odds-ratio*. Respecto a las cifras medias de larvas por gramo de pulmón, con ANOVA, tampoco se constataron diferencias significativas al tener en cuenta las condiciones edafo-climáticas de las zonas de procedencia de los corzos.

Al relacionar la **edad de los animales** con el porcentaje y las cifras medias de larvas por gramo de pulmón, se comprobó que eran ligeramente superiores en los animales más jóvenes, aunque únicamente en el caso de *Dictyocaulus* se constataron diferencias significativas respecto al número de lpg (F= 5,150; p= 0,029).

Al estudiar las posibles relaciones entre **el sexo de los corzos** y los porcentajes de infección, se observó que estos eran superiores en los machos, especialmente en las infecciones ocasionadas por *Varestrongylus* en las que se constató que existían diferencias significativas ($X^2= 5,437$; p=0,016) respecto a las hembras. Por el contrario, las hembras presentaban cifras medias superiores de larvas de nematodos broncopulmonares por gramo de pulmón y en especial de *Dictyocaulus*, comprobándose mediante ANOVA que estas diferencias eran significativas (F= 9,002; p=0,005) únicamente para este nematodo de ciclo directo.

En el **aparato digestivo**, no se hallaron lesiones macroscópicas ni histológicas compatibles con *Mycobacterium avium paratuberculosis* en las muestras de las válvulas ileocecales y tampoco se identificaron bacterias ácido-alcohol resistentes con la tinción Ziehl-Neelsen, ni crecimiento bacteriano en los aislamientos realizados.

Mediante ELISA de competición, se detectó una baja seroprevalencia (2,9%) de infección por **pestivirus**.

Por el contrario, todos los corzos estudiados estaban parasitados por **nematodos gastrointestinales** y su número osciló entre 3 y 10.072 ejemplares por animal ($\bar{x} = 1070 \pm 1020$).

La prevalencia e intensidad de infección por nematodos gastrointestinales varió en los diferentes tramos del aparato digestivo, siendo en abomaso (100%; $\bar{x} = 954 \pm 769$) e intestino delgado (91,8%; $\bar{x} = 85 \pm 143$) donde se obtuvieron los valores más elevados y los más bajos se hallaron en intestino grueso (58,6%; $\bar{x} = 3 \pm 2$) y ciego (53,5%; $\bar{x} = 3 \pm 3$). Con las diferentes pruebas estadísticas utilizadas se constató que, tanto en la prevalencia ($X^2 = 189,967$; $p < 0,001$) como en la intensidad de infección ($F = 1484,811$; $p < 0,001$), existían diferencias significativas al considerar la localización de los nematodos en los diferentes tramos del aparato digestivo y que la intensidad de infección por nematodos gastrointestinales en el abomaso era significativamente superior a la del resto de tramos ($p < 0,001$).

En el **abomaso** se identificaron 12 especies de nematodos gastrointestinales, aunque su prevalencia e intensidad de infección fue diferente: *Ostertagia leptospicularis* (98,6%; $\bar{x} = 383 \pm 406$), *O. kolchida* (88,2%; $\bar{x} = 59 \pm 89$), *T. circumcincta* (6,6%; $\bar{x} = 28 \pm 30$), *T. trifurcata* (0,5%; $\bar{x} = 21 \pm 0$), *Spiculoptera spiculoptera* (96,2%; $\bar{x} = 483 \pm 349$), *S. mathevossiani* (55,9%; $\bar{x} = 25 \pm 32$), *Trichostrongylus axei* (25,6%; $\bar{x} = 119 \pm 219$), *T. vitrinus* (2,4%; $\bar{x} = 350 \pm 474$), *T. capricola* (1,4%; $\bar{x} = 28 \pm 40$), *T. colubriformis* (0,9%; $\bar{x} = 13 \pm 10$),

Nematodirus filicollis (2,8%; $\bar{x} = 200 \pm 435$) y *Haemonchus contortus* (1,4%; $\bar{x} = 6 \pm 3$). En este tramo fueron más frecuentes las infecciones cuádruples (45,1%), predominando la integrada por *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S. spiculoptera* y *S. mathevossiani*), seguidas por las triples (27%) y quíntuples (15,8%). En un pequeño porcentaje de animales, que no superó el 13%, se identificaron una, dos, seis u ocho especies diferentes de nematodos.

En el intestino delgado se hallaron 13 especies de nematodos gastrointestinales, aunque su prevalencia e intensidad varió de unas a otras: *O. leptospicularis* (18,3%; $\bar{x} = 52 \pm 194$), *Ostertagia kolchida* (8,4%; $\bar{x} = 10 \pm 5$), *Spiculoptera spiculoptera* (21,6%; $\bar{x} = 33 \pm 64$), *S. mathevossiani* (1,9%; $\bar{x} = 11 \pm 7$), *Trichostrongylus vitrinus* (3,4%; $\bar{x} = 11 \pm 7$), *T. axei* (3,4%; $\bar{x} = 22 \pm 16$), *T. colubriformis* (2,4%; $\bar{x} = 26 \pm 26$), *T. capricola* (1,9%; $\bar{x} = 97 \pm 154$), *Nematodirus filicollis* (65,4%; $\bar{x} = 191 \pm 871$), *N. spathiger* (2,4%; $\bar{x} = 8 \pm 4$), *Cooperia oncophora* (1%; $\bar{x} = 9 \pm 7$), *C. pectinata* (0,5%; $\bar{x} = 31 \pm 31$) y *C. punctata* (1%; $\bar{x} = 12 \pm 9$). Las infecciones monoespecíficas fueron las más frecuentes (60%; entre las que predominó *N. filicollis*), seguidas de las asociaciones de 2 especies (23,4%, con predominio de *N. filicollis* y *S. spiculoptera*) y con menor frecuencia se hallaron infecciones por 3, 4 y 5 especies.

En intestino grueso se identificaron 4 especies: *Trichuris capreoli* (40%; $\bar{x} = 2 \pm 1$), *Trichuris ovis* (2,8%; $\bar{x} = 1 \pm 0$), *Oesophagostomum venulosum* (35,8%; $\bar{x} = 2 \pm 2$) y *Chabertia ovina* (2,4%; $\bar{x} = 1 \pm 1$). El 61% de los corzos estaban infectados por una sola especie (*T. capreoli*), mientras que en el 36,6% y 2,4% de los animales se hallaron infecciones dobles (*O. venulosum* y *T. capreoli*) y triples (*O. venulosum*, *T. capreoli* y *T. ovis*), respectivamente.

En el ciego se hallaron 3 especies, aunque su prevalencia e intensidad de infección fue muy baja: *Oesophagostomum venulosum* (36%; $\bar{x} = 3 \pm 3$), *T. capreoli* (28%; $\bar{x} = 2 \pm 1$) y *T. ovis* (7,6%; $\bar{x} = 2 \pm 2$). En este tramo, fueron más prevalentes (69,8%) las infecciones monoespecíficas (*O. venulosum*) y con

menor frecuencia se hallaron las integradas por 2 especies (26,6%; *O. venulosum* y *T. capreoli*) y las triples (3,6%).

La mayoría de las especies se localizaron en abomaso o en intestino delgado y en estos 2 tramos las especies comunes fueron *O. leptospicularis*, *O. kolchida*, *S. spiculoptera*, *S. mathevossiani*, *T. axei*, *T. vitrinus*, *T. capricola*, *T. colubriformis* y *N. filicollis*. En intestino grueso y ciego se hallaron 4 especies diferentes y fueron comunes a ambos tramos 3 de ellas: *T. capreoli*, *T. ovis* y *O. venulosum*.

En corzos abatidos en España, es la primera vez que se citan las especies: *Teladorsagia trifurcata*, *Trichostrongylus vitrinus*, *T. capricola*, *T. colubriformis*, *Haemonchus contortus*, *Nematodirus spathiger*, *Cooperia oncophora*, *C. pectinata*, *C. punctata*, *Trichuris capreoli*, *Oesophagostomum venulosum* y *Chabertia ovina*. Por el contrario, en este estudio no hallamos: *Teladorsagia davtiani*, *Ostertagia ostertagi*, *O. occidentalis*, *Spiculopteragia asymmetrica* y *Nematodirus europaeus* especies observadas por otros autores en corzos procedentes de diferentes regiones españolas.

Al comparar las especies halladas en los corzos con las señaladas por otros autores en ganado ovino en pastoreo en España observamos que son comunes a ambos rumiantes, 12 especies de nematodos gastrointestinales: *Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata*, *Trichostrongylus axei*, *T. capricola*, *T. vitrinus*, *T. colubriformis*, *Nematodirus spathiger*, *N. filicollis*, *H. contortus*, *Trichuris ovis*, *Oesophagostomum venulosum* y *Chabertia ovina*.

Asimismo, los corzos y el ganado vacuno en pastoreo en diferentes regiones de España, están infestados por 9 especies comunes: *O. ostertagi*, *T. trifurcata*, *T. axei*, *T. vitrinus*, *H. contortus*, *C. oncophora*, *C. punctata*, *T. ovis* y *Ch. ovina*.

Al relacionar la **zona de procedencia de los corzos** con el porcentaje de infección, se observó que los géneros más prevalentes en los animales abatidos en las 3 áreas de estudio fueron *Spiculopteragia* y *Ostertagia*.

Además, en los corzos procedentes de la Costa se observó un elevado porcentaje de *Trichuris* y *Oesophagostomum* y los valores de *odds-ratio* indicaron que, en esta zona, los animales tenían mayor riesgo de infección por *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris*. En los corzos abatidos en el Centro se observó una elevada prevalencia de *Nematodirus* y *Trichuris* y en los de la Montaña de *Nematodirus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris*. No obstante, con Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias eran únicamente significativas para *Spiculopteragia* ($X^2= 7,035$; $p= 0,030$), *Oesophagostomum* ($X^2= 8,827$; $p= 0,012$) y *Trichuris* ($X^2= 6,339$; $p= 0,042$). Las diferencias edafo-climáticas existentes entre las zonas de procedencia de los corzos influyen sobre la prevalencia de los géneros de nematodos gastrointestinales.

Por el contrario, la intensidad de infección fue muy variable en los corzos abatidos en las 3 zonas y las desviaciones estándar fueron muy altas en todos los casos; con ANOVA, se constató que las diferencias no eran significativas excepto para *Teladorsagia* ($F= 6,716$; $p= 0,012$).

Al estudiar las posibles relaciones entre los porcentajes de los diferentes géneros y la **edad de los animales** se observó que, en general, en los adultos la prevalencia de la mayoría de los géneros era superior; no obstante, con Chi-cuadrado se constató que estas diferencias no eran significativas y los valores de *odds ratio* no indicaron que existiese un mayor riesgo de infección por los distintos géneros al tener en cuenta la edad de los animales.

Respecto a la intensidad de infección, en general, fue superior en los animales de mayor edad, excepto para *Nematodirus* y *Trichuris*, donde fue ligeramente superior en los más jóvenes; no obstante, con ANOVA únicamente se constataron diferencias significativas para *Trichuris*.

Al relacionar los porcentajes de los diferentes géneros hallados con el **sexo de los animales**, se observó que, en general, los machos eran los que presentaban mayor prevalencia de infección. Sin embargo, mediante Chi-cuadrado se comprobó que estas diferencias solo eran significativas para *Nematodirus*, *Oesophagostomum* y *Trichuris* y los valores *odds-ratio* indicaron

que los machos presentaban mayor riesgo de infección por estos 3 géneros que las hembras.

Por el contrario, la intensidad de infección fue ligeramente superior en las hembras y en especial para *Nematodirus* que fue el género que presentó mayor número de adultos y con ANOVA se constató que estas diferencias eran significativas. Estos resultados son similares a los observados en las infecciones por nematodos broncopulmonares, en las que también habíamos constatado que en los machos existía mayor prevalencia y riesgo de infección que en las hembras; sin embargo, en las hembras se halló mayor intensidad de infección.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ACEVEDO, P.; DELIBES-MATEOS, M.; ESCUDERO, M. A.; VICENTE, J.; MARCO, J.; GORTÁZAR, C. (2005) Environmental constraints in the colonization sequence of roe deer (*Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758) across the Iberian Mountains, Spain. *Journal of Biogeography* **32**: 1671-1680.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. (1997). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. Volumen I, 3ª Edición. Organización Panamericana de la salud.
- ACHESON, D.W.K. (2001). An alternative perspective on the role of *Mycobacterium paratuberculosis* in the etiology of Crohn's disease. *Food Control*, **12**: 335-338.
- AGUIRRE, A.A.; BRÖJER, C.; MÖRNER, T. (1999). Descriptive epidemiology of roe deer mortality in Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, **35**: 753-762.
- ALMERÍA, S.; LLORENTE, M.M.; URIARTE, J. (1996). Monthly fluctuations of worm burdens and hypobiosis of gastrointestinal nematodos of calver in extensive Management Systems in the Pyrenees (Spain). *Veterinary Parasitology*, **67**: 225-236.
- ALMERÍA, S.; LLORENTE, M.M.; URIARTE, J. (2000). Caracterización de las poblaciones de nematodos gastrointestinales adquiridas por terneros durante el pastoreo de áreas de montaña. *Separata Información Técnica Agraria*, **96** (1): 67-76.
- ÁLVAREZ, G.; RAMOS, J. (1992). Dieta del corzo (*Capreolus capreolus*) en una localidad mediterránea (Quintos de Mora, Montes de Toledo). *Acta Vertebrata*, **19**: 107-114.
- ÁLVAREZ, J.; DE JUAN, L.; BRIONES, V.; ROMERO, B.; ARANAZ, A.; FERNÁNDEZ-GARAYZABAL, J.F.; MATEOS, A. (2005): *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in fallow deer and wild boar in Spain. *Veterinary Record*, **156**: 212-213.
- ARAGÓN, S. (1996). Situación actual de las poblaciones de corzos en España. *Quercus*, **124**: 16-19.

- ARMOUR, J.; JENNINGS, F.W.; MURRAY, M.; SELMAN, I. (1973). Bovine ostertagiosis: clinical aspects, pathogenesis, epidemiology and control. Helminth diseases of cattle, sheep and horses in Europe. *Symposium Workshop Held at the Veterinary School of the University of Glasgow*. Scotland.
- ARMOUR, J.; DUNCAN, M. (1987). Arrested larval development in cattle nematodes. *Parasitology Today*, **3**: 171-176.
- BAKER J.C. (1995). The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, **11**: 425-445.
- BAULE C. (2000). Molecular characterization of bovine viral diarrhoea virus, an important pathogen of cattle. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, **95**: 9-38.
- BALICKA-RAMISZ, A.; CISEK, A.; RAMISZ, A.; PILARCZYK, B. (2003). Investigation of the lung, stomach and intestine helminth infections of roe deer in North-West Poland. *Tierärztliche Umschau*, **58**: 489-491.
- BALSEIRO, A.; ESPÍ, A.; PRIETO, J.M. (2004). Prevalencia de la paratuberculosis bovina en Asturias. IX Congreso de Medicina Bovina, Gijón (España). 26-27
- BALSEIRO, A.; OLEAGA, A.; ORUSA, R.; ROBOTTO, S.; ZOPPI, S.; DONDO, A.; GORIA, M.; GORTÁZAR, C.; MARÍN, F.J.; DOMENIS, L.; (2009). Tuberculosis in roe deer from Spain and Italy. *The Veterinary Record*, **164**: 468-470.
- BARADEL, J.M.; BARRAT, J.; BLANCOU, J.; BOUTIN, J.M.; CHASTEL, C.; DANNACHER, G.; DELORME, D.; GERARD, Y.; GOURREAU, J.M.; KIHM, U.; LARENEUDIE, B.; LE GOFF, C.; PASTORET, P.P.; PERREAU, P.; SCWERS, A.; THIRY, E.; TRAP, D.; UILENBERG, G.; VANNIER, P. (1988). Results of a serological survey of wild mammals in France. *Revue Scientifique et Technique de L' Office International des Epizooties*, **7**: 873-883.
- BARRAT, J.; BLANCOU, J.; CHASTEL, C.; DANNACHER, G.; GOURREAU, J.; KIHM, U.; LARENAUDIE, B.; LE GOFF, C.; PASTORET, P.; PERREAU, P.; SCHWERS, A.; TRAP, D.; UILENBERG, G.; VANNIER, P. (1985). Enquête sérologie des laboratoires des services vétérinaires sur les maladies infectieuses

de quelques mammifères sauvages de France. *XVIIth Congress of the International Union of Game Biologist*. Brussels: 17-21.

- BASCUAS, J.A. (1989). Neumopatías de los bovidos adultos. *Bovis*, **26**: 57-69.
- BASSANO, B.; BOANO, G.; MENEGUZ, P.G.; MUSSA, P.P.; ROSSI, L. (1995). I selvatici delle Alpi Piemontesi, Biologica e Gestione. EDA Regione Piemonte, Torino, Italy.
- BEARD P.M.; HENDERSON D.; DANIELS M.J.; PIRIE A.; BUXTON D.; GREIG A.; HUTCHINGS M.R.; MCKENDRICK I.; RHIND S.; STEVENSON K.; SHARP J.M. (1999). Evidence of paratuberculosis in fox (*Vulpes vulpes*) and stoat (*Mustela erminea*). *Veterinary Record*, **145**: 612–613.
- BECHER, P.; ORLICH, M.; SHANNON, A.D.; HORNER, G.; HEINZ-JURGER, T. (1997). Phylogenetic analysis of Pestivirus from domestic and wild ruminants. *Journal of General Virology*, **78**: 1357-1366.
- BENZ, G.W. (1985). *Trichostrongylosis in ruminants*. In: *Parasites, Pests and Predators*. S. M. Gaafar, W.E. Howard, R.E. Marsh (Eds.). Elsevier Science Publishing Co. Amsterdam: 227-248.
- BISSET, S.A.; MARSHALL, E.D.; MORRISON, L. (1987 a). Economics of a dry-cow antihelmintic drenching programme for dairy cows in New Zealand. Part 1: overall response in 47 herds. *Veterinary Parasitology*, **26**: 107-118.
- BISSET, S.A.; MARSHALL, E.D.; MORRISON, L. (1987 b). Economics of a dry-cow antihelmintic drenching programme for dairy cows in New Zealand. Part 2: influence of management factors and other herd characteristics on the level of response. *Veterinary Parasitology*, **26**: 119-129.
- BLANCO, J.C. (1998). *Mamíferos de España*. Volumen I. Editorial Planeta, Barcelona.
- BLANCOU, J. (1983). Serological testing of wild roe deer (*Capreolus capreolus*) from the Trois Fontaines Forest region of Eastern France. *Journal of Wildlife Diseases*, **19**: 271-273.

- BOADELLA M.; CARTA T.; OLEAGA A.; PAJARES G.; MUÑOZ M.; GORTÁZAR C. (2010). Serosurvey for selected pathogens in Iberian roe deer. *BMC Veterinary Research*, **6**: 51.
- BOEV, S. N. 1975. Protostrongylids. Moscow Idateľ'stvo Akedemii Nauk SSSR. Gel'mintologičeskaia Laboratoriia, Moskva. *Osnovy Nematodologii*, **25**.
- BOLIN S.R.; RIDPATH J.F.; BLACK J.; MACY M.; ROBLIN R. (1994). Survey of cell lines in the American Type Culture Collection for bovine viral diarrhea virus. *Journal of virological methods*, **48**: 211–221.
- BOLIN S.R. (1995). The pathogenesis of mucosal disease. *Veterinary Clinics of Northamerica*, **11**: 489–500.
- BORCHERT, A. (1975). Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza. Traducción de la 3ª edición. 745 pp.
- BORGSTEEDE, F.H.M.; EYSKER, M. (1987). Strains of cattle parasites in the Netherlands with different propensities for inhibited development. *Veterinary Parasitology*, **24**: 93-101.
- BORGSTEEDE, F.H.M.; JANSEN, J.; VAN NISPEN TOT PANNERDEN, H.P.M.; VAN DER BURG, W.P.J; NOORMAN, N.; POUTSMA, J.; KOTTER, J.F. (1990). An investigation of the endoparasitic helminth fauna of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in the Netherlands. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, **36**: 104-109.
- BOUVIER, G. (1963). Possible transmission of tuberculosis and brucellosis from game animals to man and to domestic animals. *Bulletin de l'Office des Epizooties*, **59**: 433-436.
- BOWMAN, D.D.; EBERHARD, M.L.; LITTLE, S.E.; LIGHTOWERS, M.W.; LYNN, C.N. (2011). Georgis Parasitología para Veterinarios. Editorial Elsevier. 453 pp.
- BRAZA, F.; VARELA, I.; SAN JOSÉ, C.; CASES, V. (1989). Distribution actuelle du chevreuil (*Capreolus capreolus*), du daim (*Dama dama*) et du cerf (*Cervus elaphus*) en Espagne. *Zeitschrift für Säugetierkunde*, **54**: 393-396.

- BROCK K.V. (1995). Diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Veterinary Clinics of North America*, **11**: 549–561.
- BROWNLIE J. (1985). Clinical aspects of the bovine virus diarrhoea/mucosal disease complex in cattle. *In Practice*, **7**: 195–202.
- CABARET, J.; ANJORAND, N.; LECLERC, C. (1984). Le parasitisme helminthique des chèvres laitières en Touraine. Interpretation des examens coproscopiques. *Bulletin de la Société Vétérinaire Pratique de France*, **68**: 1-11.
- CARBALLEIRA, A.; DEVESA, C.; RETUERTA, R.; SANTILLÁN, E.; UCIEDA, F. (1983). *Bioclimatología de Galicia*. Fundación Pedro Barrié de la Maza. A Coruña, España.
- CARMAN, S.; VAN DREUMEL, T.; RIDPATH, J.; HAZLETT, M.; ALVES, D.; DUBOVI, E.; TREMBLAY R.; BOLIN, S., GODKIN, A.; ANDERSON, N. (1998). Severe acute bovine viral diarrhoea in Ontario, 1993-1995. *Journal of veterinary internal medicine*, **10**: 27–35.
- CARRILLO, E.B. (1992). *Influencia de tratamientos sistemáticos con albendazol sobre la prevalencia e intensidad de parasitación por helmintos pulmonares en ovejas y corderos mantenidos en pastoreo*. Memoria de Licenciatura, Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.
- CARRILLO-GONZÁLEZ, E.B.; MORRONDO-PELAYO, P.; DÍEZ-BAÑOS, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; LÓPEZ-ALMARZA, J.L. (1994). First report of *Dictyocaulus noereri* Railliet et Henri, 1907 (Nematoda: Trichostrongyloidea) in Spain. *Researchs and Reviews in Parasitology*, **54**: 265–267.
- CARRILLO-GONZÁLEZ, E.B.; DÍEZ-BAÑOS, N.; MORRONDO-PELAYO, P.; LÓPEZ-ALMARZA, J.L.; DÍEZ-BAÑOS, P. (1995). Infección por *Varestrongylus capreoli* (Stroh and Schimd, 1938) Dougherty, 1945, en pulmones de corzo (*Capreolus capreolus*) en Galicia. *IV Congreso Ibérico de Parasitología*. Santiago de Compostela: 84-85.

- CASADEMUNT, S.; CABALLERO, J.; VENDRELL, J.; ARTIGAS, C. (2004). Estudio epidemiológico de seis años de diagnóstico de BVD en España. *IX Congreso internacional de medicina bovina*.
- CENTENERA, R. (2005). El corzo: expansión, caza y gestión. Editorial La Trébere. Madrid, 192 pp.
- CHIODINI, R.J. (1983). *Crohn's disease*. Merkal editor. *Proceedings First International College of Paratuberculosis*. 198-1999.
- CID-GONZÁLEZ, R.; CHOUZA, M. (1995). *El corzo (Capreolus capreolus)*. *Atlas de vertebrados de Galicia*. Consello de Cultura Galega. Santiago de Compostela, 1: 310–311.
- CIENFUEGOS, S.; VÁZQUEZ, L.; DACAL, V.; PARDO, M.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; PANADERO, R.; MORRONDO, P.; LÓPEZ, C. (2007). Estudio preliminar de los nematodos broncopulmonares en el ganado ovino de Galicia. Libro de Actas del X Congreso Ibérico de Parasitología, Madrid (España).
- CIRONE, K.; MORSELLA, C.; ROMANO M.; PAOLICCHI, F. (2007). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: presencia en los alimentos y su relación con la enfermedad de Crohn. *Revista Argentina de Microbiología*, 39: 57-68.
- CISEK, A.; BALICKA-RAMISZ, A.; RAMISZ, A.; PILARCZYK, B. (2003). Course and treatment of lungworm infection game animals (Red deer, roe deer and fallow deer) in North-West Poland. *Electronical Journal of Polish agricultural Universities. Veterinary Medicine*, 6: 1-7.
- CLARKE M.C.; BROWNLIE J.; HOWARD C.J. (1987). Isolation of cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus from tissues of infected animals. *Pestivirus Infections of Ruminants*, Harkness J.W. Ed. Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, 3-10.
- CLIFTON-HADLEY, R.S.; WILESMITH, J.W. (1991). Tuberculosis in deer: a review. *Veterinary Record*, 129: 5-12.

- COLES, G.C. (1988). Drug resistance in ostertagiosis. *Veterinary Parasitology*, **27**: 89-96.
- CORNEJO, S.; SUÁREZ, L.; ÁLVAREZ, F.; ALUNDA, J.M.; ROJO, F.A. (1986). Estudio parasitológico del ganado vacuno asturiano. *ONE Veterinaria*, **62**: 22-46.
- COSTA, L. (1992). *Ecología del corzo en las montañas cantábricas. Modelo de gestión*. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad de León.
- COUSINS, D.V. (2001). *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *Revue scientifique et technique de L'Office International des Epizooties*, **20**: 71-85.
- DACAL, V.; VAZQUEZ, L.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S.; PANADERO, R.; LÓPEZ, C.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2010). Cambios en la capacidad pulmonar de corzos (*Capreolus capreolus*) del Noroeste de España infectados por nematodos broncopulmonares. *Galemys*, **22**: 233-242.
- DASKALOV, P. (1965). On the reproductive isolation between *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) Cobb, 1898 and *Haemonchus placei* (Place, 1893) Ramson, 1911. *Bull of the Central Helminthological Laboratory, Bulgarian Academy of Sciences*, **10**: 11-17.
- DASKALOV, P. (1971). *Haemonchus contortus*: genetically determined polymorphism in females. *Experimental Parasitology*, **32**: 364-368.
- DASKALOV, P. (1974). On the reproductive relation between *Ostertagia circumcincta*, *Teladorsagia davtiani* and *Ostertagia trifurcata*. *Izvestiya Checoslovaquie*, **17**: 69-72.
- DAVID G.P.; CRAWSHAW T. R.; GUNNING R.F.; HIBBERD R.C.; LLOYD G.M.; MARSH P.R. (1994). Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. *Veterinary Record*, **134**: 468-472.

- DE LISLE, G.; YATES, G.F.; COLLINS, D.M. (1993). Paratuberculosis in farmed deer: case reports and DNA characterization of isolates of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **5**: 567-571.
- DEDEK, J.; WITT, W.; LOPELMANN, H.; NATTERMANN, H.; KNOPKE, C. (1991). Results of serological tests of red deer, roe deer, fallow deer and mouflon for selected infections. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, **46**: 101-104.
- DELAHAY, R. J.; SMITH, G. C.; BARLOW, A. M.; WALKER, N.; HARRIS, A.; CLIFTON-HADLEY, R. S.; CHEESEMAN, C. L. (2007) Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the south-west region of England: a survey of prevalence and a semiquantitative assessment of the relative risks to cattle. *Veterinary Journal*, **173**: 287-301.
- DEL VALLE, J.M.; ROJO, F.A.; DÍEZ-BAÑOS, P. (1978). Estudio sobre los tricostrongídeos del ganado vacuno en León. *Hygia pecoris*, **1**: 82-107.
- DEMIASZKIEWICZ, A.W. (1987). Skład gatunkowy oraz ekstensywnosc inwazji jeleniowatych w wybranych lowiskach przez nicienie z rodziny Protostrongylidae (Species composition and infestation extensiveness of Protostrongylidae nematodes in cervids on selected hunting grounds). *Wiadomosci Parazytologiczne*, **33** (1): 57-62.
- DÍAZ, R.; STEEN, M.; REHBINDER, C.; ALENIUS, S. (1988). An outbreak of a disease in farmed fallow deer (*Dama dama*) resembling bovine virus diarrhea/mucosal disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **29**: 369-376.
- DÍAZ, R.; REHBINDER, C.; FEINSTEIN R. (1989). Occurrence of intracytoplasmatic inclusion bodies in the digestive epithelium of fallow deer (*Dama dama l.*). *Acta Veterinaria Scandinavica*, **30**: 301-305.
- DÍAZ, R.; STEEN, M.; FABER, S. (1996). Studies of a disease with ulcerative and necrotizing lesions in swedish roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **27**: 71-75.
- DÍAZ, P.; PEDREIRA, J.; FREIRIA, D.; ÁLVAREZ, A.; RAMÍREZ, M.; LOMBA, C.; ARIAS, M.; SUÁREZ, J.L.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PAZ, A. (2003). Situación

- de las nematodosis gastrointestinales en bovinos de raza Rubia Gallega. *Boletín de ACRUGA*, **6**: 11-14.
- DÍAZ, P.; PEDREIRA, J.; ARIAS, M.; LOMBA, C.; SUÁREZ, J.L.; PAZ, A.; MORRONDO, P. (2005). Infecciones parasitarias en vacas de raza Rubia Gallega de la provincia de Lugo: influencia de la edad. *Buiatría española*, **10**: 231-234.
- DÍAZ, P. (2006). *Estudio epidemiológico de las principales endoparásitos del ganado vacuno de raza Rubia Gallega de la provincia de Lugo*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- DÍAZ, P.; DACAL, V.; VÁZQUEZ, L.; PATO, J.; PAZ, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; ARIAS, M.S.; FRANCISCO, I.; CIENFUEGOS, S.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 a). Infecciones por coccidios eiméridos que afectan a corzos y a ganado vacuno en extensivo en Galicia. *XIII Jornadas sobre Producción Animal*. Zaragoza: 179-181.
- DÍAZ, P.; LÓPEZ, C.; PAZ, A.; VÁZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S.; PANADERO, R.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 b) Gastrointestinal nematodes in domestic and wild ruminants sharing pastures in Galicia (NW Spain). *17th International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants International Congress*. Perugia (Italia): 78.
- DÍAZ, P.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; VÁZQUEZ, L.; CIENFUEGOS, S.; PATO, F.J.; PAZ-SILVA, A.; PANADERO, R.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; LÓPEZ, C.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2010). *Eimeria* infections in wild ruminants (*Capreolus capreolus*) and extensive reared domestic ruminant from Galicia (N.W. Spain). *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, **69**: 83-89.
- DIÉGUEZ, F.J.; ARNAIZ, I.; SANJUÁN, M.L.; VILAR, M.J.; LÓPEZ, M.; YUS, E. (2007). Prevalence of serum antibodies to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in Galicia (Northwest Spain). *Preventive Veterinary Medicine*, **82**: 321-326.

- DÍEZ-BAÑOS, N. (1989). *Estudio epidemiológico sobre los nematodos gástricos ovinos de la provincia de León, con especial referencia a Ostertagia spp.* Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- DÍEZ-BAÑOS, N.; DÍEZ BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (1990). Natural infection by gastrointestinal nematodes in *Capreolus capreolus*. *VII International Congress of Parasitology*. París. 749.
- DÍEZ-BAÑOS, N.; CABARET, J.; DÍEZ-BAÑOS, P. (1992 a). Interspecific interactions in naturally acquired nematode communities from sheep abomasum in relation to age of host and season in four areas of León (Spain). *International Journal for Parasitology*, **22**: 327-334.
- DÍEZ-BAÑOS, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; MORRONDO PELAYO, M. P. (1992 b). Epidemiología de las nematodosis gástricas de ovinos de raza churra en la provincia de León. *IX Reunión científica de la asociación de Parasitólogos Españoles*. Homenaje al Prof. Dr. Miguel Cordero del Campillo. León: 98.
- DÍEZ-BAÑOS, N.; CARRILLO-GONZÁLEZ, E.; LÓPEZ-ALMARZA, J.; MORRONDO-PELAYO, P.; DÍEZ-BAÑOS, P. (1995). Gastrointestinal nematodes in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Galicia (Northwest of Spain). *VII International Helminthological Symposium*. Košice (Slovak Republic): 33.
- DÍEZ-BAÑOS, N.; CARRILLO, E.B.; HIDALGO, M.R.; MORRONDO, P. (1996). Natural infection by gastrointestinal nematodes in roe deer (*Capreolus capreolus*) from three provinces in the Cantabrian mountains (NW Spain). VII European Multicolloquium of Parasitology, Parma (Italia). *Parassitologia*, **38**: 260.
- DÍEZ-BAÑOS, P.; MARTINEZ, C.; MORRONDO, P.; MEZO, M.; BARREIRO, A. (1989). Helmintosis pulmonares en ovinos de raza gallega. *V Xornadas de estudo de sanidade animal en Galicia*. 26-27 de Outubro.
- DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO-PELAYO, P.; FEIJOO-PENELA A.; CARRILLO-GONZÁLEZ B.; LÓPEZ-SÁNDEZ, C. (1994). Relationship between the excretion of Protostrongylidae (Nematoda) larvae in sheep in N.W. of Spain and the climatic conditions. *Journal of Helminthology*, **68**: 197-201.

- DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO-PELAYO, P.; DÍEZ-BAÑOS, N. (1999). Parasitosis respiratorias. En: *Parasitología Veterinaria*. Editores: M. Cordero del Campillo y F.A. Rojo Vázquez. 374-400.
- DÍEZ-BAÑOS, P.; DACAL, V.; VÁZQUEZ, L.; PARDO, M.; CIENFUEGOS, S.; DÍEZ-BAÑOS, N.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; MORRONDO, P. (2008). Analysis of the prevalence and parasitic intensity by lung nematoda in roe deer (*Capreolus capreolus*) hunted in Galicia (N.W. Spain): effect of age. *Libro de Actas del 16º Congreso Internacional de la Fe.Me.S.P.Rum, Zadar (Croacia)*. 119-122.
- DÍEZ-BAÑOS, P.; PATO, J.; VÁZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; DÍAZ, P.; FRANCISCO, I.; DÍEZ-BAÑOS, N.; MORRONDO, P. (2010). Influence of age on gastrointestinal nematode parasitation in roe deer (*Capreolus capreolus*) hunted in N.W. of Spain. *XVIII Internartional Congress of Mediterranean Federation of Helath and Production of Ruminants, Durrës (Albania)*. 79.
- DINABURG, A.G. (1944). Development and survival under outdoor condition of eggs and, larvae of the common ruminant stomach worm, *Haemonchus contortus*. *Journal of Agricultural Research*, **69**: 421-433.
- DIVINA, B.P.; WILHEMSSON, E.; MÖRNER, T.; MATTSSON, J.G.; HÖGLUND, J. (2002). Molecular identification and prevalence of *Dictyocaulus* spp. (Trichostrongylidea: dictyocauludae) in Swedish semi-domestic and free living cervids. *Journal of Wildlife Disease*, **38** (4): 769-775.
- DONNELLY, C. A.; WOODROFFE R. (2005). Positive and negative effects of widespread badger culling on tuberculosis in cattle. *PNAS Applied Biological Sciences*, **103** (40): 14713-14717.
- DOYLE, L.G.; HEUSCHELE, W.P. (1983). Bovine viral diarrhea virus infective in captive exotic ruminants. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **183**: 1257-1259.
- DRÓŠDŠ, J. (1965). Studies on helminths and helminthiases in Cervidae. 1. Revision of the subfamily Ostertagiinae Sarwar, 1956 and an attempt to explain the phylogenesis of its representatives. *Acta Parasitologica Polonica*, **13**: 445-481.

- DRÓŠDŠ, J. (1966). Studies on helminths and helminthiases in Cervidae. II. The helminth fauna in Cervidae in Poland. *Acta Parasitologica Polonica*, **14**: 1-13.
- DRÓŠDŠ J. (1967). The state of research on the helminthofauna of the European bison. *Acta Theriologica*, **12**: 377–384.
- DRÓŠDŠ, J.; DEMIASZKIEWICZ, A.W.; LACHOWICZ, J. (1992). The helminth fauna of the roe deer in a hunting area inhabited by red deer, elk and European bison (Borecka Forest, Poland) over the yearly cycle. *Acta Parasitologica*, **37** (2): 83-88.
- DUBOVI, E.J. (1994). Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. *Food Animal Practice*, **10**: 503–514.
- DURETTE-DESSET, M.C.; CHABAUD, A.G. (1981). Nouvel essai de classification de Nématodes Trychostrongyloidea. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **56**: 297-312.
- DURETTE-DESSET, M.C. (1983). CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Key to the genera of the Superfamily Trichostrongylidae. R.C. Anderson & A.G. Chabaud (Ed.). *Commonwealth Institute of Parasitology*, **86**.
- DURETTE-DESSET, M.C. (1989). Nomenclature proposée pour les espèces décrites dans la sous-famille des Ostertagiinae López-Neyra, 1947. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **56** (3): 297-312.
- EDWARDS S. (1990). The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. *Revue scientifique et technique de L'Office International des Epizooties*, **9**: 115-130.
- EDWARDS S. (1993). Bovine viral diarrhoea virus. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*, Doyle A., Griffiths J.B. and Newell D.G. Eds. John Wiley and Sons, Chichester, UK. Module 7B: **5**, 1-8.
- EYSKER M.; BOERSEMA, J.H.; HENDRIKX, W.M.L. (1990). Recovery of different stages of *Dictyocaulus viviparus* from cattle lungs by a combination of a

- perfusion and a Baermann technique. *Research in veterinary science*, **49** (3): 373-374.
- EUZEBY, J. (1961). Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidentes sur la Pathologie Humaine. Tome Premier. Maladies Dues aux nemathelminthes. Vigor Frères Editeurs. Paris
- FANDOS, P.; MARTÍNEZ, T.; PALACIOS, F. (1987). Estudio sobre la alimentación del corzo (*Capreolus capreolus*, L. 1758) en España. *Ecología*, **1**: 161-186.
- FERTÉ, H. (1987). Les nematodes parasites du tube digestif du Chevreuil (*Capreolus capreolus*, L. 1758). A propos d'une enquette realise´e dans le Nord-Est de la France. Doctoral Thesis. Academie d'Orleans, Tours.
- FERTÉ, H.; CLEVÁ, D.; DEPAQUIT, J.; GOBERT, S.; LÉGER, N. (1999). Status and origin of Haemonchinae (Nematoda: Trichostrongylidae) in deer: a survey conducted in France from 1985 to 1998. *Parasitology Research*, **86**: 582-587.
- FISCHER S.; WEILAND, E.; FROLICH, K. (1998). Characterization of a bovine viral diarrhea virus isolated from roe deer in Germany. *Journal of Wildlife Diseases*, **34**: 47-55.
- FORD, E. (1972). *Genetique ecologique*, Gauthier Villars, Paris.
- FROLICH, K. (1995). Bovine virus diarrhoea and mucosal disease in free-ranging and captive deer (Cervidae) in Germany. *Journal of Wildlife Diseases*, **31**: 247-250.
- GAFFURI, A.; GIACOMETTI, M.; TRANQUILLO, V.M; MAGNINO, S.; CORDIOLI, P.; LANFRANCHI, P. (2006). Serosurvey of roe deer, chamois and domestic sheep in the central Italian Alps. *Journal of Wildlife Research*, **42** (3): 685-690.
- GARCÍA ROMERO, C. (1992). *Nematodosis gastrointestinales bovinas en Galicia y ovinas en Castilla-León*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- GARCÍA, A.; GALÁN, L.; MORALES, J.; CASTILLO, L.; BERMEJO, F.; HERMOSO DE MENDOZA, J.; GUTIÉRREZ, JL.; MERCHÁN, J.; ALONSO, JM. (2008).

Estudio de seroprevalencia de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en la cabaña bovina de Extremadura (España suroccidental) y papel del ciervo (*Cervus elaphus*) en su epidemiología. IV Congresso Ciências Veterinárias, Fonte Boa (Portugal).

GARIJO, M.M.; ALONSO, F.D.; MARTÍNEZ-CARRASCO, C.; RUIZ DE YBAÑEZ, M.R. (2007). Nematodosis broncopulmonares en el ganado ovino de la región de Murcia (Sureste de España). *Revista Ibérica de Parasitología*, **67** (1-4): 117-125.

GARIJO, M.M.; ALONSO, F.D.; MARTÍNEZ-CARRASCO, C.; RUIZ DE YBAÑEZ, M.R. (2009). Localización anatómica y proporción de sexos de los trichostrongídeos gastrointestinales en el ganado ovino de la región de Murcia. *Anales de la Facultad de Veterinaria de Murcia*, **25**: 97-104.

GENNERO, M.S.; MANDOLA, M.L.; MASOERO, L.; MENEGUZZI, P.G.; MENEGHI, D.; DEROSI, L. (1993). Serological survey in wild ruminants from Piedmont. *Societa Italiana delle Scienze Veterinarie. 47. National meeting. Session 3. Contagions diseases and pathologic anatomy*. Riccione, Forli (Italia).

GIBBONS, L.M.; KHALIL, L.F. (1982). A key for the identification of the nematode family Trichostrongylidae, Leiper 1912. *Journal Helminthology*, **56**: 185-223.

GIBBONS, L.M.; HÖGLUND, J. (2002). *Dictyocaulus capreolus* n. sp. (Nematoda: Trichostrongyloidea) from roe deer, *Capreolus capreolus* and moose, *Alces alces* in Sweden. *Journal of Helminthology*, **76**: 119-124.

GILMOUR, N.J.L. (1954). *Mycobacterium paratuberculosis*. *Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren*, Blobel H. & Schliesser T., eds. Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany: 281-313.

GILMOUR, N.; NYANGE, J. (1989). Paratuberculosis (Johne's disease) in deer. *In Practice*, **11**: 193-196.

GODDARD, P.J. (1994). Johne's disease in red deer. *VDS Annual Meeting*.

- GÓMEZ-RINCÓN, C.; URIARTE, J.; VALDERRÁBANO, J. (2006). Efficiency of *Duddingtonia flagrans* against Trichostrongyle infections of sheep on mountain pastures. *Veterinary Parasitology*, **141**: 84-90.
- GORTÁZAR, C.; HERRERO, J.; VILLAFUERTE, R.; MARCO, J. (2000). Historical examination of the status of large mammals in Aragon, Spain. *Mammalia*, **64** (4): 411-422.
- GORTÁZAR, C.; VICENTE, J.; GAVIER-WIDEN, D. (2003). Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar. *Veterinary Record*, **152**: 779-780.
- GORTÁZAR, C.; FERROGLIO, E.; HÖFLE, U.; FRÖLICH, K.; VICENTE, J. (2007). Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *European Journal Wildlife Research*, **53**: 241-256.
- GREIG, A.; STEVENSON, K.; HENDERSON, D.; PEREZ, V.; HUGHES, V.; PAVLIK, I.; HINES, I.; MCKENDRICK, I.; SHARP, J.M. (1999). Epidemiological study of paratuberculosis in wild rabbits in Scotland. *Journal of Clinical Microbiology*, **37**: 1746-1751.
- GRIFFEN J.F.T.; HESKETH J.B.; MACKINTOSH C.G.; SHI Y.E.; BUCHAN G.S. (1993). BCG vaccination in deer: distinctions between delayed type hypersensitivity and laboratory parameters of immunity. *Immunology and cell biology*, **71**: 559-570.
- GRIFFEN J.F.T.; CROSS J.P.; CHINN D.N.; ROGERS C.R.; BUCHAN G.S. (1994). Diagnosis of tuberculosis due to *M. bovis* in New Zealand red deer (*Cervus elaphus*) using a composite blood test (BTB) and antibody (ELISA) assays. *New Zealand Veterinary Journal*, **42**: 173-179.
- GUNNING, R. F. (1985). Bovine tuberculosis in roe deer. *Veterinary Record*, **116**: 300-301.
- GUTIÉRREZ, A. (2000). *Estado sanitario de los rumiantes silvestres de las reservas Nacionales de León*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

- HAMEL A.L.; WASYLYSHEN M.D.; NAYAR G.P.S. (1995). Rapid detection of bovine viral diarrhoea virus by using RNA extracted directly from assorted specimens and a one-tube reverse transcription PCR assay. *Journal Clinical of Microbiology*, **33**: 287-291.
- HIDALGO, M.R.; ARES, C.M.; MANZANERA, E.; DÍEZ, N. (1999). Parasitofauna del corzo (*Capreolus capreolus*) en Zamora. *VI Congreso Ibérico de Parasitología*. Córdoba.
- HIDALGO, M.R.; DÍEZ-BAÑOS, N.; MARTÍNEZ, A. (2010). *Parasitosis del ciervo y sus repercusiones en la salud animal y humana: estudio de la zona norte de la provincia de León*. En: *Parasitosis de animales silvestres y ambiente sostenible. La interfaz animal silvestre/doméstico*. Edita: Universidad Complutense de Madrid.
- HILLEMAR, K. (1966). A disease resembling paratuberculosis (Johne's disease) in roe deer (*Capreolus capreolus*). An aetiological and patho-anatomical study. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **7**: 330-363.
- HOBERT, E.P.; KOCAN A.A.; LORA G.R. (2001). *Gastrointestinal strongyles in wild ruminants. Parasitic diseases of wild mammals*. Iowa State University Press Ames. United States. Second edition: 571 pp.
- HUGONNET, L.; CABARET, J. (1987) Infection of roe-deer in France by lung nematode, *Dictyocaulus eckerti* Skrjabin, 1931 (Trichostrongyloidea): influence of environmental factors and host density. *Journal of Wildlife Diseases*, **23**: 109–112.
- INDERLIED C.B.; KEMPER C.A.; BERMUDEZ L.E.M. (1993). The *Mycobacterium avium* complex. *Clinical Microbiology Reviews*, **6**: 266-310.
- JANSEN, J. (1959). Trichostrongylids in the fourth stomach of roe deer and red deer in the Netherlands. International union of game biologist. *Transactions of the 4th Congress*. Países Bajos: 91-95.
- JANSEN, J. (1972). On *Nematodirus europaeus* n. sp. From the small intestine of roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal of Helminthology*, **46** (3): 235-239.

- JANSEN, J. (1975). On the helminth fauna of the moufflon (*Ovis aries musimon*) compared with those of domestic sheep (*Ovis aries dom.*) and deer (*Capreolus capreolus*, *Cervus elaphus*) in the Netherlands. *3rd International Wildlife Disease Conference*: 589-613.
- JANSEN, J. (1992). On the nematode parasite fauna of Frisian roe deer (*Capreolus capreolus*). En: *Memoriam al profesor Dr. Don Fco de Paula Martínez Gómez*. Universidad de Córdoba. 301-307.
- JESSUP, D.A.; ABBAS, B.; BEHYMER, D. (1981). Paratuberculosis in tule elk in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **179**: 1252-1254.
- KATIC, I. (1961). Paratuberculosis (Johne's disease) with special reference to captative wild animals. *Nordisk Veterinaer Medicin*, **13**: 205-214.
- KAUFMANN, J. (1996). *Parasitic Infections of Domestic Animals. A Diagnosis Manual*. Editorial Birkäusser Verlag. Basel.
- KAZLAUSKAS, J.; PUZAUSKAS, H. (1974). On the factors affecting the distribution of roe-deer helminths in Lithuania. *Acta Parasitologica Lituanica*, **12**: 87-91.
- KOCHKO, Y.P. (1997). The principal helminthiases of ruminant ungulates in Belovezhskaya Pushcha. *Belovezhskaya Pushcha Forest Biodiversity Conservation*: 224-235.
- KOZAKIEWICZ B.; KOWALSKI, J. MASZEWSKA, I.; PRYGODZKI, H. (1986). Ekstensywnosc inwazji I próby zwalczania *Capreocaulus capreoli* (Stroh I Schmid, 1938) u sarn polnych w Wielkopolsce (Infestation extensiveness and attempts of elimination of *Capreocaulus capreoli* in field roe deer in Great Poland). *Medycyna Weterynaryjna*, **42** (8): 478-480.
- KRAEMER, A. (1969) Social organization and social relations within an alpine chamois population (*Rupicapra rupicapra* L.). *Zeitschrift für Tierpsychologi.*, **26**: 889-964.

- KRAMETTER R.; NIELSEN S.S.; LOITSCH A.; FROETSCHER W.; BENETKA V.; MOESTL K.; BAUMGARTNER W. (2004). Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria. *Journal of Wildlife Diseases*, **40** (4): 791-795.
- LANCASTER, M.B.; HONG, C.; MICHEL, J.F. (1983). Polymorphism in the Trichostrongylidae. A.R. Stone, H.M. Platt and L.F. Khalil (Editors). *Concepts in Nematode Systematics, Systematics Association Special*, **22**: 293-302.
- LAVÍN, S.; MARCO, I. (2006). Infección por pestivirus en el rebeco (*Rupicapra pyrenaica*) en Cataluña. Preguntas y respuestas. Servicio de Ecopatología de Fauna Salvaje. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona.
- LEHMANN, V.E. (1969). Zur Säugetierfauna Sudandalusiens. Sonderdruck aus Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender. *Freunde zu Berlin*, **9**: 15-32.
- LEHMANN, V.E.; SÄGESSER, H. (1986). *Capreolus capreolus* Linneus, 1758. In: Niethammer, J., Krapp, F. (Eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas*. Band 2/II Paarhufer - Artiodactyla (Suidae, Cervidae, Bovidae). Aula Verlag, Wiesbaden. 233-268.
- LILLEHAUG, A.; VIKOREN, T.; LARSEN, I.L.; AKERSTEDT, J.; THARALDSEN, J.; HANDELAND, K. (2003). Antibodies to ruminant alpha-herpesviruses and pestiviruses in Norwegian cervids. *Journal of Wildlife Diseases*, **39**: 779-786.
- LIÉNARD, E.; DEPAQUIT, J.; FERTÉ, H. (2006). *Spiculoptera mathevossiani* Ruchliadev, 1948 is the minor morph of *Spiculoptera spiculoptera* (Gushanskaya, 1931): molecular evidence. *Veterinary Research*, **37**: 683-694
- LOKEN, T. (1995). Ruminant pestivirus in animals other than cattle and sheep. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. Ed. Saunders Company, pp. 597-614.
- LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (1997). Development of *Neostromylus linearis* (Nematoda, Protostrongylidae) in *Cernuella (Cernuella) virgata* experimentally infected and maintained in the subhumid climate of Galicia in Northwest Spain. *Journal of Helminthology*, **71**: 211-215.

- LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (1998). Effect of the infection by *N. Linearis* on the survival of the intermediate host *Cernuella (cernuella) virgata*. *Parasite*, **5**: 181-184.
- LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; BRAVO, A.; PAZ, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2003). *Sarcocystis spp.* infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) from the north-west of Spain. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, **49**: 211-218.
- LOVELL, R.; LEVI, M.; FRANCIS, J. (1944). Studies on the survival of Johne's bacilli. *Journal of Comparative Pathology*, **54**: 120-129.
- MACHACKOVA, M.; SVASTOVA, P.; LAMKAA, A.J.; B, PARMOVA, I.; LISKA, V.; SMOLIK J.; FISCHER, O.A.; PAVLIK I. (2004). Paratuberculosis in farmed and free-living wild ruminants in the Czech Republic (1999–2001). *Veterinary Microbiology*, **101**: 225-234.
- MACKINTOSH, C.G; DE LISLE, G.W.; COLLINS, D.M.; GRIFFIN, J.F. (2004). Mycobacterial diseases of deer. *New Zealand Veterinary Journal*, **52**: 163-174.
- MACKO, J. (1982). To the problem of morphospecies, taxospecies and biospecies. I. The establishment of species of the biomorphospecies and biotaxospecies types. *Helminthologia*, **20**: 13-20.
- MAFF (1986). *Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Technical Bulletin N°18, London. HMSO, 2-67.
- MANGA GONZÁLEZ; M.; MORRONDO, P. (1982). Notes on natural infection of some Helicidae species (Mollusca, Stylommatophora) by Protostrongylinae sheep larvae. *Malacología*, **22**: 61-70.
- MANGA GONZÁLEZ, M.Y.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; MORRONDO, M.P.(1986). *Moluscos hospedadores intermediarios de Protostrongylidae ovinos*. Ed. Universidad de León: 1-136.
- MARCO, I.; RUIZ, M.; JUSTE, R.; GARRIDO, J.M.; LAVIN, S. (2002). Paratuberculosis in free-ranging fallow deer in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, **38**: 629-632.

- MARCO, I.; ROSELL, R.; CABEZÓN, O.; BENERIA, M.; MENTABERRE, G.; CASAS, E.; HURTADO, A.; LÓPEZ-OLVERA, J.R.; LAVÍN, S. (2009) Serologic and virologic investigations into pestivirus infection in wild and domestic ruminants in the Pyrenees (NE Spain). *Research in Veterinary Science*, **87**: 149-153.
- MARCO I.; CABEZÓN O.; ROSELL R.; FERNÁNDEZ-SIRERA L.; ALLEPUZ A.; LAVÍN S. (2011). Retrospective study of pestivirus infection in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica*) and other ungulates in the Pyrenees (NE Spain). *Veterinary Microbiology*, **149**: 17-22.
- MAARTEN, E. (1994). Dictyocaulosis in cattle. *Compendium of continuing education education for the practicing veterinarian*, **16** (5): 669-675.
- MARTIN, D.A.; SNODGRASS, D.R; CORRIGALL, W. (1977). Bovine virus diarrhoea antibody in scottish deer. *Veterinary record*, **26**: 187.
- MARTÍNEZ-NISTAL, C.; DíEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (1989). Infestación natural por nematodos broncopulmonares en ovinos de raza gallega. I Congreso Ibérico de Parasitología, 218. Cáceres (España).
- MARTÍNEZ MARCOS, S.J. (1997). *El corzo en la Reserva Regional de Caza de Ancares. Veterinaria y Fauna Salvaje*. Edit. Colegio Oficial de Veterinarios de Zamora; **1**: 91-110.
- MEANA, A.; ROJO, F.A. (1999). *Parasitosis del aparato digestivo de los rumiantes: tricostrongilidosis y otras nematodosis*. En: *Parasitología Veterinaria*. Coordinadores Cordero; Rojo. Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana: 237-253.
- MEUNIER, K. (1983). *Das spanische reh. Wildbiologische informationen für den jager VI*. Editorial R.R. Hofmann.
- MEYLING, A.; HOUE, H.; JENSEN, A.M. (1990). Epidemiology of bovine virus diarrhea virus. *Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties*, **9**: 75-93.
- MEZO-MENÉNDEZ, M.; DíEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO PELAYO, P.; DíEZ-BAÑOS, N. (1995). Faecal egg output, contamination of pastures and serum pepsinogen

- concentration in heifers with natural gastrointestinal nematode infections in North-West Spain. *Journal of Helminthology*, **69**: 53-58.
- MICHEL, J.F. (1974). Arrested development of nematodes and some related phenomena. *Advances in Parasitology*, **12**: 280-322.
- MICHEL, J.F. (1985). *Epidemiology and control of gastrointestinal helminths in domestic animals. Chemotherapy of gastrointestinal helminths*. Capítulo 3. Springer-Verlag. Berlin.
- MISIEWICZ, J. (1994). Zarazenie jeleniowatych (Cervidae) nicieniami plucnymi w trzech regionach Polski. *Sylvan*, **1**: 21-25.
- MISIEWICZ, J.; DEMIASZKIEWICZ, A.W. (1993). Występowanie i ekstensywność inwazji nicieni plucnych u jeleni, danieli i sarn w lasach olsztyńskich i śląskich. *Medycyna Weterynaryjna*, **49** (3): 137-138.
- MORRIS, R.S.; PFEIFFER, D.U.; JACKSON R. (1994). The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology*, **40**: 153-177.
- MORRONDO PELAYO M.P.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; DÍEZ-BAÑOS, P.; ROJO, F. A. (1978). Cinética de la eliminación larvaria en bronconeumonías verminosas ovinas. *Annales de la Facultad de Veterinaria de León*, **24**: 39-45.
- MORRONDO, P.; (1985). Estudio experimental de especies de heliciidae (*Mollusca*, *Stylommatophora*) de león como hospedadores intermediarios de Protostrongylidae (*Nematoda*, *Metastrongyloidea*) ovinos. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad de León.
- MORRONDO, P.; MANGA, M.Y.; CORDERO, M.; DIEZ, P.; DIEZ, N. (1987). Development of *Neostongylus linearis* (Nematoda, Protostrongylidae) larvae in *Ceruella cespitum arigonis* (Mollusca, Stylommatophora) infected in the laboratory and kept in its natural environment. *Angewandte Parasitologie*, **28**: 37-45.
- MORRONDO PELAYO M.P.; MANGA GONZÁLEZ M.Y.; CORDERO DEL CAMPILLO, M.; DÍEZ-BAÑOS, P.; DÍEZ-BAÑOS, N. (1988). Larval development of

- Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in experimentally infected *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis* (Mollusca, Helicidae). *Journal of Molluscan Studies*, **54**: 21-34.
- MORRONDO, P.; GONZÁLEZ-LANZA, C.; HIDALGO-ARGÜELLO, M.R.; MANGA-GONZÁLEZ, M.Y. (1991). Cinética de la eliminación de larvas de nematodos broncopulmonares en ovinos de la provincia de León. I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales-Europeas de Parasitología, 257.
- MORRONDO PELAYO, M.P.; DÍEZ-BAÑOS, P.; CABARET, J. (1992). Influence of faeces dessication on survival and infectivity of first-stage larvae of *Muellerius capillaris* and *Neostongylus linearis* (Nematoda, Protostrongylidae). *Journal of Helminthology*, **66**: 213-219.
- MORRONDO, P.; LÓPEZ, C.; DÍEZ-BAÑOS, N.; PANADERO, R.; SUÁREZ, J.L.; PAZ, A.; DÍEZ-BAÑOS, P. (2005). Larval development of *N. Linearis* (Nematoda, Protostrongylidae) in the mollusc *Cochlicella barbara* infected and maintained in a subhumid area (NW Spain) and its possible influence in the infection of small ruminants. *Parasitology Research*, **97**: 318-322.
- MORRONDO, P.; VÁZQUEZ, L.; PARDO, M.; DACAL, V.; DÍAZ, P.; PAZ, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; ARIAS, M.S.; URIARTE, J.; DÍEZ-BAÑOS, P. (2008) Roe deer (*Capreolus capreolus*) as a reservoir of parasitic infections in domestic ruminants under field conditions in Galicia. *16th International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants International Congress*. Zadar (Croacia): 129-132.
- MORRONDO, P.; VÁZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; CIENFUEGOS, S.; DÍAZ, P.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; DÍEZ-BAÑOS, P. (2009) Comparative study of parasitic infections in roe deer (*Capreolus capreolus*) hunted in last decade in Galicia (NW Spain). *17th International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants International Congress*. Perugia (Italy): 59-60.
- MÜLLER, T.; BEIER, D. (1997). A serological screening on the occurrence of antibodies against selected bovine and ovine viral diseases in roe deer (*Capreolus capreolus*), red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*)

- and mouflon (*Ovis musimon*) in Brandenburg. *Zeitschrift für Jagdwissenschaften*, **43**: 166-175.
- MUSSA, P. P.; ACETO, P.; ABBA, C.; STERPONE, L.; MEINER, G. (2003). Preliminary study on the feeding habits of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the western Alps. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **87**: 105-108.
- NAVARRETE, I.; REINA, D.; HABELA, M.; NIETO, C.G.; SERRANO, F.; PEREZ, E. (1990). Parasites of roe deer (*Capreolus capreolus*) in Cáceres province, Spain. *32 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere*. Eskilsuna (Suecia).
- NEBBIA, P.; ROBINO, P.; FERROGLIO, E.; ROSSI, L.; MENEGUZZ, G.; ROSATI, S. (2000). Paratuberculosis in red deer (*Cervus elaphus hippelaphus*) in the western Alps. *Veterinary Research Communications*, **24**: 435-443.
- NETTLETON, P.F.; EK-KOMMONEM, C.; TANSKANEN, R.; REID, H.W.; SINCLAIR, J.A.; HERRING, J.A. (1988). *Studies on the epidemiology and pathogenesis from red deer (Cervus elaphus) and reindeer (Rangifer tarandus). Management and health of farmed deer. Current topics in Veterinary Medicine. A seminar in the commission of the European Communities programme of coordination of research in animal husbandry held in Edinburgh*, pp. 143-148.
- NETTLETON, P.F. (1990). Pestivirus infection in ruminants other than cattle. *Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties*, **9**: 131-150.
- NIELSEN, S.S.; ROENSHOLT, L.; BITSCH, V. (2000). Bovine virus diarrhea virus in free-living deer from Denmark. *Journal of Wildlife Diseases*, **36**: 584-587.
- NOGAREDA BURCH, C. (1988). *Estudios epidemiológicos sobre las nematodosis gastroentéricas de los terneros pastantes en Galicia (España)*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León: 1-341.
- NOGAREDA, C.; MEZO, M.; URIARTE, J.; LLOVERAS, J.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. (2006). Dynamics of infestation of cattle and pasture by gastrointestinal nematodes in an Atlantic Temperate Ambient. *Journal of Veterinary Medicine*, **53**: 439-444.

- Organización Animal de Epizootias. (2004). *Manual of Diagnostic Tests & Vaccines for Terrestrial Animals*. Part 2, Sección 2.2, Capítulo 2.2.6.
- OLDE RIEKERINK, R.G.M.; DOMINICI, A.; BARKEMA, H.W.; DE SMIT, A.J. (2005). Seroprevalence of pestivirus in four species of alpine wild ungulates in the High Valley of Susa, Italy. *Veterinary Microbiology*, **108**: 297-303.
- O'REILLY L.; DABORN, C. J. (1995). The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, **76**: 1-46.
- OVEJERO, J.I. (1971). La diarrea vírica bovina en España. Aislamiento, identificación y caracterización del virus. *Revista Patronato de Biología Animal*, **15**: 129 pp.
- PACETTI, A.; BELLETTI, G.; FABBI, M.; MUTINELLI, F.; GENCHI, C. (1994). Paratuberculosis del cervo. *Obiettivi e documenti veterinari*, **4**: 67-70.
- PACON, J. (1994). Parasites of mouflons, stags and roe-deer from the Lower Silesia region). *Wiad Parazytologi*, **40**: 279-292.
- PANADERO R.; CARRILLO E. B.; LÓPEZ C.; DÍEZ-BAÑOS N.; DÍEZ-BAÑOS P; MORRONDO M.P. (2001). Bronchopulmonary helminths of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the northwest of Spain. *Veterinary Parasitology*, **99**: 221-229.
- PAPAGEORGIU, N.K. (1978). Use of Forest Openings by roe deer as shown by pellet group counts. *The Journal of Wildlife Management*, **42**: 650-654.
- PATO, F.J. (2009). Estudio sobre infecciones por nematodos pulmonares y *Mycobacterium bovis* en corzos (*Capreolus capreolus*) en Galicia. Trabajo de investigación tutelado. Diploma de Estudios Avanzados. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
- PATO, F.J.; VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DIAZ, P.; URIARTE, J.; DIEZ-BAÑOS, N.; DACAL, V.; LOPEZ, C.; PANADERO, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 a). Especies de nematodos gastrointestinales compartidas por corzos (*Capreolus capreolus*) y ganado vacuno en pastoreo en Galicia. *Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*, Tomo **1**: 176-178.

- PATO, F.J.; DACAL, V.; VAZQUEZ, L.; CIENFUEGOS, S.; PAINCEIRA, A.; CORTIÑAS, F.J.; FRANCISCO, I.; LÓPEZ, C.; DIEZ-BAÑOS, P.; FERNÁNDEZ, G.; MORRONDO, P. (2009 b). Análisis de las infecciones por nematodos pulmonares y *Mycobacterium bovis* en corzos (*Capreolus capreolus*) de Galicia. *Acta Parasitológica Portuguesa*, **16** (1-2): 24-25.
- PATO, F.J.; VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, S.; CIENFUEGOS, S.; DIAZ, P.; DACAL, V.; DIEZ-BAÑOS, N.; FERNANDEZ, G.; MORRONDO, P. (2009 c). Gastrointestinal infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) from Galicia (NW Spain). XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM). Perugia (Italia).76.
- PATO, F.J. (2010). Estudio de las infecciones por nematodos gastrointestinales y *Mycobacterium avium* paratuberculosis de corzos en Galicia. Memoria de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.
- PATO, F.J.; DÍEZ BAÑOS, N.; VÁZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; LÓPEZ, C.; PAZ, A.; FERNÁNDEZ, G.; DÍAZ, P.; MORRONDO, P. (2011 a). Gastrointestinal nematode species in roe deer from Galicia. *XII Congreso Ibérico de Parasitología*. Zaragoza (España), 215.
- PATO, F.J., VÁZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; PANADERO, R.; DÍEZ BAÑOS, P.; FERNÁNDEZ, G.; DÍAZ, P.; MORRONDO, P. (2011 b). Nematodes from roe in North-Western Spain: Prevalence and infection intensity depending of their localization in the gastrointestinal tract. *XII Congreso Ibérico de Parasitología*. Zaragoza (España), 216.
- PATTERSON, D.S.; ALLEN, W.M. (1972). Chronic mycobacterial enteritis in ruminants as a model of Crohn's disease. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, **65**: 998-1001.
- PAVLIK, I.; BARTL, J.; DVORSKA, L.; SVASTOVA, P.; DU MAINE, R.; MACHACKOVA, M.; AYELE, W.Y.; HORVATHOVA A. (2000): Epidemiology of paratuberculosis in wild ruminants studied by restriction fragment length polymorphism in the Czech Republic during the period 1995–1998. *Veterinary Microbiology*, **77**: 231-251.

- PEDREIRA, J. (2006). *Infecciones por tricostrongídeos en ovinos de la provincia de Lugo. Estudios in vivo e in vitro sobre resistencias a bencimidazoles y lactonas macrocíclicas*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.
- PÉREZ, M. (2010). *Infecciones por Eimeria en rumiantes silvestres (Capreolus capreolus) y domésticos mantenidos en extensivo en Galicia*. Trabajo Tutelado de Máster Universitario en Investigación en Medicina y Sanidad veterinaria. Universidad de León.
- PÉREZ, V.; GARCÍA MARÍN, J.F.; BRU, R.; MORENO, B.; BADIOLA, J.J. (1995). Resultados obtenidos en la vacunación de ovinos adultos frente a paratuberculosis. *Medicina Veterinaria*, **12**: 196-201.
- PÉREZ, A.; PANADERO, R. VÁZQUEZ, L.; PATO, F.J.; DÍAZ, P.; LÓPEZ, C.M.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2011 a). Morphometric and ultrastructural study of the cysts of Sarcocystis in roe deer (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. XII Congreso Ibérico de Parasitología, Zaragoza (España).
- PÉREZ, A.; VÁZQUEZ, L.; PATO, F.J.; LÓPEZ, C.M.; DÍAZ, P.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P.; PANADERO, R. (2011 b). Infection by Sarcocystis in free ranging roe deer (*Capreolus capreolus*) from Galicia (NW Spain). XII Congreso Ibérico de Parasitología, Zaragoza (España).
- PERUMAALLA, V.S.; ADAMS, L.G.; PAYEUR, J.B.; JARNAGIN, J.L.; BACA, D.R.; SUAREZ-GUEMES, F.; FICHT, T.A. (1996) Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* in Texas and Mexico. *Journal Clinical Microbiology*, **34** (9): 2066-2071.
- PILARCZYK, B.; BALICKA-RAMISZ, A.; RAMISZ, A.; LACHOWSKA, S. (2005). The occurrence of intestinal parasites of roe deer and red deer in the Western Pomerania volvodeship. *Wiad Parazytol*, **51**: 397-310.
- POYNTER D. (1963). Parasitic bronchitis. *Advances in Parasitology*, **1**: 179-212.
- PRESTWOOD, A.K.; S.R. PURSGLOVE. (1981). *Gastrointestinal nematodes. Diseases and parasites of white-tailed deer*. Ed. W.R. Davidson, F.A. Hayes,

- V.F. Nettles, and F.E. Kellogg. Tallahassee, FL: Tall Timbers Research Station Miscellaneous Publication, **7**: 318-349.
- PRIETO, M.; MORRONDO, P.; LOPEZ, C.; DIEZ, P. (1993). Survival of first-stage *Neostrogylus linearis* larvae in ovine faeces under environmental conditions in Galicia (North-west Spain). *Annales Parasitologie Humaine et Comparée*, **68**: 38-42.
- QUIROZ, R.H. (1984). Parasitología y Enfermedades Parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa.
- RAMAJO, V.; PÉREZ, R.; RAMAJO, A.; OLEAGA, A. (2007). Preliminary data about the parasitism caused by Protozoa, Helminths and Ticks in cervids and wild bovis from Salamanca (Western Spain). *Revista Ibérica de Parasitología*, **67** (1-4): 69-77.
- RASVE (Red de Alerta Sanitaria Veterinaria). 2010. Históricos sanitarios, Resumen Anual del Programa Nacional de Erradicación de Tuberculosis Bovina.
- REGUERA, A.; HIDALGO, R.; MORRONDO, P.; DÍEZ-BAÑOS, N. (1979). Ritmos de eliminación larvaria de Protostrongílidos en ovinos en condiciones naturales. II Congreso Nacional de Parasitología. León (España), 205.
- REGUERA, A.; CASTAÑÓN-ORDOÑEZ, L.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1996). Ecological relation among first larvae of four species of Trichostrongylidae (Nematoda) within their hosts. *Applied Parasitology*, **37**: 66-73.
- REHBEIN, S.; LUTZ, W.; VISSER, M.; WINTER, R. (2000). Investigation of the parasite fauna of wildlife in Northrhine-Westfalia. 1. Endoparasites of roe deer. *Zeitschrift fur jagdwissenschaft*, **46**: 248-269.
- REINA, D.; HABELA, M.; SERRANO, F.; NIETO, C.G.; BREÑA, M.; PÉREZ, E.; NAVARRETE, I. (1992). Contribución al conocimiento de la parasitofauna de los animales silvestres y de vida libre en la provincia de Cáceres (España). En: "In memoriam" al Prof. Dr. Don Fco de Paula Martínez Gómez. Universidad de Córdoba, 407-428.

- RIEMANN, H.; ZAMAN, M.R.; RUPPANNER, R.; AALUND, O.; JORGENSEN, J.B.; WORSAAE, H.; BEHYMER D. (1979): Paratuberculosis in cattle and free-living exotic deer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **174**: 841-843.
- ROBINO, P.; NEBBIA, P.; TRAMUTA, C.; MARTINET, M.; FERROGLIO E.; DE MENEGHI, D. (2007). Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in wild cervids (*Cervus elaphus hippelaphus* and *Capreolus capreolus*) from Northwestern Italy. *Europe Journal Wildlife Research*, **54**: 357-360.
- RODRÍGUEZ-RAJO, F.J.; FRENGUELLI, G.; JATO, M.V. (2003). Effect of air temperature on forecasting the start of the *Betula* pollen season at two contrasting sites in the south of Europe (1995-2001). *International Journal of Biometeorology*, **47**: 117-125.
- ROJO VÁZQUEZ J. (1975). *Las relaciones entre Protostrongylinae y bacterias aerobias en el pulmón ovino*. Tesis Doctoral. Facultad Veterinaria. Universidad de Oviedo.
- ROJO VAZQUEZ, F.A.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1975). *Spiculoptera spiculoptera* (Guschanskaia, 1931) en *Cervus elaphus* L. en León. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León* (Spain), **21**: 41-45.
- ROJO VÁZQUEZ, F.A.; DÍEZ-BAÑOS, N.; DÍEZ-BAÑOS, P; MORRONDO PELAYO, P. (1997). Gastroenteritis parasitarias. *Bovis*. 78 pp.
- ROSSI, L.; ECKEL, B.; FERROGLIO, E. (1997). A survey of the gastro-intestinal nematodes of roe deer (*Capreolus capreolus*) in a mountain habitat. *Parassitologia*, **39**: 303-312.
- RUTH G.R. (1987). Bovine viral diarrhea: a difficult infection to diagnose. *Veterinary Medicine*, **81**: 870-874.
- SÁENZ DE BURUAGA, M.; LUCIO CALERO, A.; PURRY IRAIZOZ, F.J. (2001). Reconocimiento del sexo y la edad en las especies cinegéticas. Ed. Edilesa, León, España: 127 pp.

- SÁNCHEZ ACEDO, C.; DEL CACHO, E. (1996). Dictyocaulosis: mecanismos patogénicos y aspectos inmunitarios. *Bovis*, **68**: 35-45.
- SCALA, A.; CARFAGNA, G.; URAS, P.; POGLAYEN, G.; GIANETTO, S.; GAGLIO, G. (2001). Rilievi parassitologici in bovini allevati in Gallera (Sardegna). *18th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP)*. Stresa (Italia).
- SCHMIDT, H.W. (1938) Tuberculosis in the roe deer. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **46**: 482-485.
- SCOTT, P.R.; CLARKE, C.J.; KING, T.J. (1995). Serum protein concentrations in clinical cases of ovine paratuberculosis (Johne's disease). *Veterinary Record*, **137**: 173.
- SERRAINO, A.; MARCHETTI, G.; SANGUINETTI, V.; ROSSI, M.C. ; ZANONI, R.G.; CATOZZI, L.; BANDERA, A.; DINI, W.; MIGNONE, W.; FRANZETTI, F.; GORI, A. (1999). Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques. *Journal Clinical Microbiology*, **37** (9): 2766-2771.
- SHIMALOV V.V.; SHIMALOV V.T. (2003). Helminth fauna of cervids in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, **89**: 75-76.
- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.; SCHULZ, R.S; POPOVA, T.I.; BOEV, S.N.; DELYAMURE, S.L. (1952). *Key to parasitic nematodes*. Vol. III. Moscow Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR: 890 pp.
- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.P.; SCHULZ, R.S. (1954). *Trichostrongylids of animals and man. Essentials of Nematodology*. Moscow Idatel'stvo Akedemii Nauk SSSR, **3**: 704.
- SKRJABIN, K.I.; SHIKHOBALOVA, N.P.; SCHULZ, R.S. (1971) *Essentials of Nematodolgy. Key to parasitic nematodes. Vol. IV. Dictyocaulidae, Heligmosomatidae and Ollulanidae of Animals*. Ed. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, **3-51**. 316 pp.

- SOULSBY, E.J.L. (1965). *Textbook of Veterinary Clinical Parasitology. I Helminths*. F.A. Davis Co Philadelphia, **1**: 120.
- SOULSBY, E. J. L. (1985). *Textbook of Veterinary Parasitology*. 1^a Ed. Blackwell.
- STOICAN, E.; OL TEANU, G. (1959). Beiträge zum Studium der Helminthofauna des Rehes (*C. capreolus*) in Rumiinien. *Probleme der Parazitologie*, **7**: 38-46.
- SUAREZ V.H.; CABARET J. (1992). Interbreeding in the sub-family Ostertagiinae (Nematoda) of ruminants. *Journal of Parasitology*, **78** (3): 402-405.
- TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. (2007). *Veterinary Parasitology*. Editorial Blackwell Publishing. 874 pp.
- TENTER, A.M.; BELLMER, A. ; SCHNIEDER, T. (1993) Evaluation of an ELISA for *Dictyocaulus viviparus* specific antibodies in cattle. *Veterinary Parasitology*, **47** (3-4): 301-314.
- THOEN, C.O.; BAUM, K.H. (1988). Current knowledge on paratuberculosis. *Journal of the American veterinary Medical Association*, **192**: 1609-1611.
- THOREL, M.F.; KRICHEVSKY, M.; LEVY-FREBAULT, V.V. (1990). Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of *Mycobacterium avium* subsp. nov., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subsp. nov., and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology*, **40**: 254-260.
- TOGNI, T.; MANFREDI, M.T.; DI CERBO, A.R.; ZANZANI, S.; GIOPPO, S.; PICCOLO, G.; BREGOLI, M.; TREVISIOL, K. (2004). Abomasal nematodes community in Cervidae (*Cervus elaphus* and *Capreolus capreolus*) from the Trentino Alto Adige (North Italy). SOIPA XXIII. *Parassitologia*, **46**: 71.
- TOMANEK, J. (1967). Contribution to knowledge of helminth fauna in roe deer of north Moravian region. *Veterinary Medicine*, **12**: 739-744.

- TRUSFIELD, M.V. (1995). *Veterinary Epidemiology*. Segunda Edición. *Blackwell Science Ltd. A Blackwell Publishing Company*. Oxford, Reino Unido.
- TRYLAND, M.; OLSEN, I.; VIKØREN, T.; HANDELAND, K.; ARNEMO, J.M.; THARALDSEN, J.; DJØNNE, B.; JOSEFSEN, T.D.; REITAN, L.J. (2004). Serologic survey for antibodies against *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in free-ranging cervids from Norway. *Journal of Wildlife Diseases*, **40** (1): 32-41.
- URIARTE J.; CASTRO, P.; ALBERTI, P.; MINGUIJON, M. (1982). Parásitos gastrointestinales de terneros en praderas de regadío I. Interés de un tratamiento antihelmíntico a la entrada en cebadero. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie: ganadera*, **14**: 133-142.
- URIARTE J.; GALMES, M.; CASTRO, P.; ALBERTI, P. (1985). Parásitos gastrointestinales de terneros en praderas de regadío. Contribución al estudio de su epidemiología. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie: ganadera*, **22** (2): 69-77.
- URIARTE J.; LLORENTE, M.M.; VALDERRÁBANO, J. (2003). Seasonal changes of gastrointestinal nematode burden in sheep under an intensive grazing system. *Veterinary Parasitology*, **118**: 79-92.
- URQUHART G.M. (1985). Lungworms of ruminants. *Parasites, Pests and Predators*, **16**: 289-298.
- URQUHART G.M.; DUNCAN, J.L.; DUNNA, M.; JENNINGS, F.W. (1987). *Veterinary parasitology*. Editorial Longman, scientific and technical. 286 pp.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.; DUNN, A.; JENNINGS, F. (1996). *Veterinary Parasitology*. 2^o edition. Blackwell Science. UK: 307 pp.
- VALCÁRCEL, F.; ROJO, F.A.; OLMEDA, A.S.; ARRIBAS, B.; MÁRQUEZ, L.; FERNÁNDEZ, N. (2009). Atlas de Parasitología ovina. Editorial Servet. 152 pp.
- VALVERDE, J.A. (1971). El lobo español. *Montes*, **159**: 229-241.

- VAN CAMPEM, H.; WILLIAMS, E.S. (1996). Wildlife and bovine viral diarrhea virus. *International Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus. A 50 Years review. June 23-25 Cornell University. College of Veterinary Medicine. Diagnostic Laboratory*, pp. 167-175.
- VAN CAMPEM, H.; WILLIAMS, E.S.; EDUARDES, J.; COOK, W.; STOUT, G. (1997). Experimental infection of deer with bovine diarrhea virus. *Journal of Wildlife Diseases*, **33**: 567-573.
- VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; DIAZ, P.; FERNÁNDEZ, G.; SUAREZ, J.L.; MOCHALES, E.; CORTIÑAS, F.J.; FRANCISCO, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 a). Influencia de la dieta sobre la parasitación por nematodos gastrointestinales en corzos (*Capreolus capreolus*) de Galicia. *Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*, Tomo **1**: 173-175.
- VÁZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; PAZ-SILVA, A.; DIEZ-BAÑOS, N.; LÓPEZ, C.; PANADERO, R.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 b). The occurrence of endoparasites of roe deer (*Capreolus capreolus*) in two different areas from NW Spain. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, **68** (1): 25-3.
- VAZQUEZ, L.; DACAL, V.; PATO, F.J.; PAZ, A.; SANCHEZ-ANDRADE, R.; ARIAS, M.S.; FRANCISCO, I.; DIEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. (2009 c). Occurrence of endoparasites in roe deer (*Capreolus capreolus*) in NW Spain: influence of age. XVII International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (FEMESPRUM). Perugia, Italia, 27-30 May 2009: 95-96.
- VÁZQUEZ, P.; MOLINA, E.; ALONSO-HEARN, M.; GEIJO, M.V.; SEVILLA, I.A.; ESTONBA, A.; RUIZ, O.; GARRIDO, J.M.; JUSTE, R.A. (2009). Age structure of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* infection in culled Friesian cattle. *Proceedings of 10th International Colloquium of Paratuberculosis*. Minneapolis, Minnesota (Estados Unidos). pp 185-188.
- VAZQUEZ, L.; PAINCEIRA, A.; DACAL, V.; PATO, F.J.; PANADERO, R.; LÓPEZ, C.; DÍAZ, P.; ARIAS, M.S.; FRANCISCO, I.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO P. (2010). Long-term study of internal parasitic infections in free-ranging roe deer

- (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, **69** (2): 172-174.
- VERCRUYSE, J.; DORNY, P.; BERGHEN, P.; GEERAERTS, J. (1986). Abomasal parasitism in dairy cows in Belgium. *Veterinary Parasitology*, **22**: 285-291.
- VETÝŠKA, V. (1980). Endoparasites of roe deer in the Strakonice Region. *Acta Veterinaria Brno*, **49**: 91-103.
- VON HOLTUM, C.; STRUBE, C.; SCHNIEDER, T.; VON SAMSON, G. (2008). Development and evaluation of a recombinant antigen-based ELISA for serodiagnosis of cattle lungworm. *Veterinary Parasitology*, **151**(2-4): 218-226.
- WILHELMSSEN C.L.; BOLIN S.R.; RIDPATH J.F.; CHEVILLE F.N.; KLUGE J.P. (1991). Lesions and localization of viral antigen in tissues of cattle with experimentally induced or naturally acquired mucosal disease, or with naturally acquired chronic bovine viral diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, **52**: 269-275
- WOOD, P.R.; CORNER, L.A.; ROTHEL, J.S. (1991). Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Australian Veterinary Journal*, **68**: 286-290.
- YAMAGUTI, S. (1961). *Systema Helminthum. The nematodes of vertebrates*. Interscience Publishers. Nueva York: 329.
- ZANELLA, G.; DURAND, B.; HARS, J.; MOUTOU, F.; GARIN-BASTUJI, B.; DUVAUCHELLE, A.; FERMÉ, M.; KAROUI, C.; BOSCHIROLI, M. L. (2008). *Mycobacterium bovis* in wildlife in France. *Journal of Wildlife Diseases*, **44**: 99-108.

