



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE LA LARVA
INFECTANTE DE
HAEMONCHUS CONTORTUS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
PHERIBERTO PEREZ POSADAS

ASESORES: M.V.Z. MS. RODOLFO NAJERA FUENTES
M.V.Z. M.C.M. HECTOR QUIROZ ROMERO



MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JUAN
1984
P466
e.j.a
P-t-84-159a

SECRET
U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE: 1975



DEDICATORIA

A mis padres: Heriberto Pérez Huerta
Josefina Posadas Cabrera

Que con su apoyo, comprensión y sacrificios; hicieron posible
la realización de una de mis metas.

A mis hermanos: Emma
Honorina
Victoria
Orquidea
Paúl
Ma. Elena
Victoria

Por sus consejos, respeto y amistad brindada.

A mis amigos:

Por todos estos años de camaradería

AGRADECIMIENTOS

Con sincera y verdadera gratitud a mis asesores:

M.V.Z. Rodolfo Nájera Fuentes

M.V.Z. Héctor Quiroz Romero

Un especial agradecimiento a los integrantes del Departamento de Parasitología, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias; que de alguna manera colaboraron en el presente estudio.

A los profesores de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, cuyos conocimientos contribuyeron a mi formación profesional.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: M.V.Z. ESTELA NUÑEZ RODRIGUEZ

VOCAL: M.V.Z. LUCAS MELGAREJO VELAZQUEZ

SECRETARIO: M.V.Z. RAMON MEZA BELTRAN

PRIMER SUPLENTE: M.V.Z. REYNALDO MORENO DIAZ

SEGUNDO SUPLENTE: M.V.Z. FRANCISCO TRIGO TAVERA

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	11
DISCUSION	33
CONCLUSIONES	39
LITERATURA CITADA	40

RESUMENCARACTERIZACION MORFOLOGICA DE LA LARVA INFECTANTE DE
Haemonchus contortus.

AUTOR: PEREZ POSADAS PHERIBERTO

ASESORES: M.V.Z. M.S. RODOLFO NAJERA FUENTES
M.V.Z. M.C.M. HECTOR QUIROZ ROMERO

Se midieron y describieron, las características morfológicas más importantes de la larva infectante (L₃) de H. contortus, aislada de ovinos de México. Se mencionan las técnicas utilizadas para el cultivo, recuperación, conteo, conservación e identificación del tercer estadio larvario.

Las principales características morfológicas observadas, fueron las siguientes: a) extremidad anterior redondeada, b) cavidad bucal globular, c) intestino bordeado por 16 células intestinales, d) cola de la larva con punta cónica y e) cola de la vaina en forma de filamento y con una desviación, dando aspecto de bayoneta. Los resultados de las dimensiones que se obtuvieron fueron: a) Longitud de la vaina larval, $\bar{X} 691 \pm 39 \mu\text{m}$; b) Longitud de la larva, $\bar{X} 622 \pm 36 \mu\text{m}$; c) Longitud del esófago, $\bar{X} 136 \pm 4 \mu\text{m}$; d) Longitud de la cola de la vaina, $\bar{X} 129 \pm 6 \mu\text{m}$; e) Longitud de la cola de la larva, $\bar{X} 60 \pm 4 \mu\text{m}$ y f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, $\bar{X} 67 \pm 7 \mu\text{m}$. Se incluyen histogramas de distribución de frecuencias, de cada uno de los parámetros identificados.

Las mediciones y descripciones del presente estudio, coinciden con las citadas por otros autores, por lo que se considera que estas características morfométricas, son propias de la larva infectante de H. contortus.

INTRODUCCION

Las verminosis gastrointestinales causan graves repercusiones económicas a la ganadería mundial, por provocar la muerte de corderos o becerros en infestaciones agudas y por la disminución en la producción de carne, lana y leche (1,4).

Entre los géneros que intervienen en la presentación de las helmintiasis gastroentéricas, Haemonchus spp. es uno de los parásitos gástricos más patógenos, caracterizado por provocar cuadros anémicos a los ruminantes domésticos, especialmente a los ovinos; asimismo, la Hemoncosis es una enfermedad frecuente en las regiones con clima tropical, subtropical y en ocasiones en clima templado húmedo (10, 19, 21, 34).

En México en el período de 1959-1975, se demostró una amplia distribución y elevada incidencia del nemátodo abomasal Haemonchus spp. (6).

Dada la importancia que representa esta parasitosis, es necesario establecer un diagnóstico preciso.

En una identificación coproparasitológica mediante las técnicas cuantitativas o cualitativas (23, 26, 30, 37), se pueden distinguir los huevos de los siguientes géneros de nemátodos gastrointestinales: Toxocara spp., Strongyloides spp., Nematodirus spp. y Trichuris spp. Sin embargo, es difícil diferenciar los huevos de Haemonchus spp., Mecistocirrus spp., Trichostrongylus spp., Ostertagia spp., Cooperia spp., Chabertia spp., Oesophagostomum spp. y Bunostomum spp., por presentar una morfología muy similar. En el caso del último género, algunos autores consideran que el huevo tiene características diferenciables en tamaño, segmentación y color (5, 18, 37).

La inmunología como opción para el diagnóstico de las helmintiasis, se ha estado desarrollando en los últimos años con resultados satisfactorios, pero aún no es utilizada en la práctica veterinaria (25).

Por medio de la necropsia parasitológica, se puede lograr el diagnóstico definitivo del género y especie a la que pertenece el parásito adulto; sin embargo, no es un procedimiento práctico ni económico, es justificable cuando el valor del animal es bajo y si se tienen rebaños o hatos grandes (12, 37).

La otra posibilidad que se tiene para dar un diagnóstico certero, es la identificación de larvas infectantes obtenidas a partir de coprocultivos, dado que en éstas se pueden establecer las diferencias precisas entre los diversos géneros de nemátodos gastroentéricos y en algunas ocasiones hasta las especies (3, 23, 27, 31, 35, 37).

Se han realizado varios trabajos sobre la caracterización del tercer estadio larvario en los rumiantes domésticos. En lo que se refiere a la larva infectante de H. contortus, Veglia 1915 (36) fué el primero en clasificarla, basándose en la morfología que ésta presentaba; posteriormente, este tipo de estudios ha sido continuado por diferentes autores: Morgan, 1930 (24); Mönnig, 1931 (22); Dikmans y Andrews, 1933 (9); Keith, 1953 (18); Hansen y Shivnani, 1956 (15); Corticelli y Lai, 1964 (7); Gevrey, Takashio y Euzéby, 1964 (13), Niec, 1968 (27); Raynaud, William y Brunault, 1969 (30); Pacenovskiy y Krupicer, 1972 (23); Abdel-Gawad, 1974 (1); Borgsteede y Hendriks, 1974 (5) e Ikedinachuku, Ikeme y Dike, 1978 (17). La mayoría de estos investigadores, tomaron en cuenta fundamentalmente las siguientes características morfométricas: a) Longitud de la vaina larval, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la cola

de la vaina, d) Longitud de la cola de la larva y e) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina.

El disponer de claves para la identificación precisa de larvas infectantes, obtenidas a partir de coprocultivos o pastos, ayudan en la obtención de datos de distribución e incidencia de las helmintiasis; así como en la elección certera del medicamento, pues los distintos géneros de nemátodos gastrointestinales, varían en su grado de patogenicidad y tienen diferente sensibilidad a los antiparasitarios. También son de utilidad para realizar pruebas in vitro con sustancias larvicidas, o para establecer infecciones experimentales en el huésped, por medio de la administración de terceras larvas; ya que de esta manera se pueden llevar a cabo estudios inmunológicos, o investigaciones sobre la acción patógena de cada uno de los parásitos y sus diversas asociaciones con otros nemátodos. Mediante el uso de claves, también es posible la evaluación de nuevos antihelmínticos, para determinar su eficacia y espectro de acción (5, 21, 23, 27).

Considerando que las características morfológicas, para la identificación del tercer estadio larvario de H. contortus en ovinos, han sido descritas por autores de otros países; es necesario contar con claves obtenidas a partir de especímenes autóctonos, para realizar el diagnóstico preciso de los géneros y especies que se encuentren en México.

HIPOTESIS:

Algunas de las características morfológicas de las larvas infectantes de H. contortus obtenidas en México, varían en relación a las descripciones por autores de otros países.

OBJETIVO:

Determinar las características morfológicas diferenciables de las larvas infectantes de H. contortus, aisladas de ovinos de México.

MATERIAL Y METODOS

Para determinar las características morfológicas de las larvas infectantes de H. contortus, se realizó el siguiente procedimiento.

1.- OBTENCION DE LAS HEMBRAS ADULTAS DEL GENERO Haemonchus.

Se adquirieron cinco ovinos Pelibuey de aproximadamente cinco meses de edad, los cuales se infectaron con larvas de nemátodos gastrointestinales, al pastorear en potreros del C.I.P.E.P. - I.N.I.P. - S.A.R.H. (Centro de Investigaciones Pecuarias del Estado de Puebla, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos). Después de realizar la necropsia parasitológica de estos animales, se obtuvo el contenido de los abomasos y mediante la técnica del Tamizado, se colectaron el total de los especímenes adultos; posteriormente, se seleccionaron macroscópicamente a las hembras que presentaban la característica morfológica de "palo de barbería" y a través del microscopio estereoscópico, se verificó que la posición de la vulva y la lengüeta supravulvar, estuvieran localizadas en el segundo tercio de la longitud de los parásitos.

2.- ELABORACION DE LOS CULTIVOS POR MEDIO DE LA TECNICA DEL UNICEL*.

Las hembras seleccionadas que contenían huevos en el útero, se lavaron y mantuvieron con solución salina fisiológica durante 24 horas y a temperatura de 35°C en estufa de cultivo. Los parásitos fueron macerados

* Técnica de cultivo para larvas infectantes, desarrollada en el Departamento de Parasitología del I.N.I.P. - S.A.R.H.

en morteros, colocados en el interior de cajas de Petri (10 cm de diámetro) junto con trozos pequeños de unicel y con aproximadamente 25 ml de agua destilada. Estas cajas se taparon e introdujeron en estufa de cultivo, a una temperatura de 25°C durante 10 días y con períodos de aireación de dos horas diarias.

3.- RECUPERACION Y CONTEO DE LAS LARVAS INFECTANTES.

Para recolectar las larvas de los cultivos, se retiró el unicel y el líquido contenido en las cajas de Petri, se vació en un vaso de precipitado (250 ml) a fin de determinar el número de larvas por mililitro, mediante el principio de dilución.

4.- INFECCION EXPERIMENTAL PURA DEL OVINO DONADOR.

Se infectó un cordero Pelibuey de cuatro meses de edad y libre de helmintos gastrointestinales, con una dosis de 5,000 L₃ de H. contortus, administradas por vía oral. Después de la primer semana postinfección, se hicieron muestreos directamente del recto cada tercer día durante -- dos semanas, hasta detectar por medio de la técnica de Flotación con solución glucosada, la presencia de huevos en las heces.

5.- REALIZACION DE LOS COPROCULTIVOS POR MEDIO DE LA TECNICA DEL HULE ESPUMA*.

Se procedió a coleccionar el total diario de la materia fecal eliminada, mediante la colocación de un calzón metabólico al ovino donador. -- Las heces recuperadas fueron maceradas e introducidas junto con trozos

* Técnica de coprocultivo para larvas infectantes, desarrollada en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Estatal de Colorado -- E.U.A.

de hule-espuma (una parte de heces por cuatro de hule-espuma), en charolas de plástico; posteriormente, se fué homogenizando el contenido de los recipientes con pequeñas cantidades de agua destilada, hasta obtener una consistencia pastosa. Los coprocultivos se pasaron a frascos grandes de vidrio (4 lts) con tapas de rosca, se cerraron y dejaron a temperatura ambiente. Estos frascos se abrieron dos horas diarias durante dos semanas para humedecer, mezclar y oxigenar las capas profundas de los cultivos.

6.- RECOLECCION Y CONSERVACION DE LAS LARVAS INFECTANTES.

Los coprocultivos se colocaron en aparatos de Baermann y se les agregó agua a temperatura de 25°C. Después de 24 horas de reposo, el contenido de los tubos de ensaye se centrifugó a 400 g (1,500 r.p.m.) durante tres minutos. El sedimento obtenido, se filtró con agua a través de tamices de diferente mallaje (500, 325 y 200 mallas/cm²), para la recolección de las larvas. Las L₃ recuperadas, se mantuvieron en frascos pequeños de vidrio (200 ml) a temperatura de 4°C, hasta el momento de ser identificadas.

7.- VERIFICACION DE LA ESPECIE DEL GENERO Haemonchus.

Al realizar la necropsia parasitológica del ovino donador, se obtuvo el contenido del abomaso y mediante la técnica del Tamizado, se colectaron el total de los nemátodos para fijarlos y conservarlos en formol al 10%, por un período de 12 horas; posteriormente, se separaron por sexo y se aclararon durante 72 horas en solución de lactofenol. Se escogieron al azar el 10% del total de los parásitos y se identificaron (a través del microscopio compuesto previamente calibrado), con base a

las principales características morfométricas citadas por los siguientes autores (14, 16, 21, 32, 38, 40). En Machos: a) Longitud total, de la abertura oral a la punta de las espículas; b) Longitud del esófago, de la abertura oral al inicio del intestino; c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales; d) Longitud de las espículas; e) Longitud de los ganchos derecho e izquierdo a la punta de las espículas y f) Forma del rayo dorsal. En hembras: a) Longitud total, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, d) Longitud de la vulva a la punta de la cola, e) Longitud del ano a la punta de la cola y f) Forma del proceso vulvar y porcentaje en que éste se presenta.

8.- MEDICION Y DESCRIPCION MORFOLOGICA DE LAS LARVAS INFECTANTES DE H. contortus.

Se identificaron un total de 200 L₃, a las cuales se les agregó individualmente entre portaobjetos y cubreobjetos, una gota de solución de adipato de piperazina (en concentración de 25 g/dl de agua destilada), para inactivarlas y facilitar la observación y medición (a través de un microscopio compuesto previamente calibrado), de las siguientes características morfológicas: a) Longitud de la vaina larval, de la abertura oral a la punta de la vaina; b) Longitud de la larva, de la abertura oral a la punta de la larva; c) Longitud del esófago, de la abertura oral al inicio del intestino; d) Longitud de la cola de la vaina, del ano a la punta de la vaina; e) Longitud de la cola de la larva, del ano a la punta de la larva; f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina; g) Forma y número de las células intestinales y h) Descripción general de la morfología larval.

9.- INTERPRETACION ESTADISTICA DE LOS RESULTADOS.

Se calcularon las dimensiones mínimas, máximas, medias y desviaciones estandar; asimismo, se realizaron los histogramas de distribución -- de frecuencias con los datos obtenidos (8).

RESULTADOS

En la figura, se muestra un esquema de la larva infectante de H. contortus, basada en las características morfológicas de las 200 larvas que se identificaron.

En general, es una larva delgada, provista de vaina, de tamaño medio y de cola mediana (fig. 2). En una observación más detallada, la extremidad anterior es redondeada, su cavidad bucal es de forma globular y el esófago es filariforme (fig. 3). El intestino está bordeado por 16 células intestinales con su respectivo núcleo (fig. 4), siendo las primeras cortas y triangulares (fig. 5) y las últimas alargadas y de forma más pentagonal (fig. 6); cabe destacar que la primera célula es pequeña e irregular (fig. 4) y la última, no se encuentra alineada a su célula contigua, si no que termina en forma individual (fig. 7). En la extremidad posterior, la punta de la cola de la larva acaba en forma cónica y la cola de la vaina, se va adelgazando hasta finalizar en punta fina; además, presenta una torcedura o fractura inmediatamente después de la terminación de la punta de la larva, semejando un látigo o una bayoneta (fig. 8). Del total de las 200 L₃ estudiadas, 69 (34.5%) tuvieron esta característica bien definida, 85 (42.5%) más o menos destacada y 46 (23%) no la presentaron.

En el cuadro 1, se indican los datos que se obtuvieron de las 200 larvas infectantes de H. contortus identificadas: a) Longitud de la vaina larval, $\bar{X} 691 \pm 39 \mu\text{m}$, b) Longitud de la larva, $\bar{X} 622 \pm 36 \mu\text{m}$; c) Longitud del esófago, $\bar{X} 136 \pm 4 \mu\text{m}$; d) Longitud de la cola de la vaina, $\bar{X} 129 \pm 6 \mu\text{m}$; e) Longitud de la cola de la larva, $\bar{X} 60 \pm 4 \mu\text{m}$, y f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, $\bar{X} 67 \pm 7 \mu\text{m}$.

Con los resultados de las dimensiones obtenidas, se diseñaron los histogramas de distribución de frecuencias. A continuación, se señalan los porcentajes máximos de cada uno de los parámetros considerados: a) Longitud de la vaina larval, el 19% de las L₃ estudiadas midieron 718 a 735 μm (fig. 9). b) Longitud de la larva, el 21% de las L₃ tuvieron un rango de 643 a 658 μm (fig. 10). c) Longitud del esófago, el 32% de las L₃ presentaron una distancia de 131 a 135 μm (fig. 11). d) Longitud de la cola de la vaina, el 24% de las L₃ identificadas midieron de 119 a 123 μm (fig. 12), e) Longitud de la cola de la larva, el 33% de las L₃ tuvieron una distancia de 61 a 64 μm (fig. 13). f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, el 52% de las L₃ presentaron un rango de 65 a 73 μm (fig. 14).

En el cuadro 2, se muestran los resultados de las medidas obtenidas en el parásito adulto de H. contortus. En machos: a) Longitud total, $\bar{X} 12 \pm 1$ mm; b) Longitud del esófago, $\bar{X} 1 \pm .05$ mm; c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, $\bar{X} 307 \pm 16$ μm ; d) Longitud de las espículas, $\bar{X} 411 \pm 13$ μm y e) Longitud de los ganchos derecho e izquierdo a la punta de las espículas, $\bar{X} 42 \pm 2$ μm y $\bar{X} 21 \pm 2$ μm respectivamente. En hembras: a) Longitud total, $\bar{X} 22 \pm 1$ mm; b) Longitud del esófago, $\bar{X} 1 \pm .04$ mm; c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, $\bar{X} 394 \pm 32$ μm ; d) Longitud de la vulva a la punta de la cola, $\bar{X} 3 \pm .16$ mm y e) Longitud del ano a la punta de la cola, $\bar{X} 412 \pm 37$ μm .

La morfología observada en el nemátodo adulto de H. contortus, fue la siguiente. En machos, el rayo dorsal presentó la forma característica de "Y" invertida, soportando al lóbulo dorsal asimétrico. En hembras, los porcentajes de presentación de las diversas formas del proceso vul-

var correspondieron a: lengüetiforme el 24%, botoniforme el 26% y con -
ausencia de proceso el 50%.

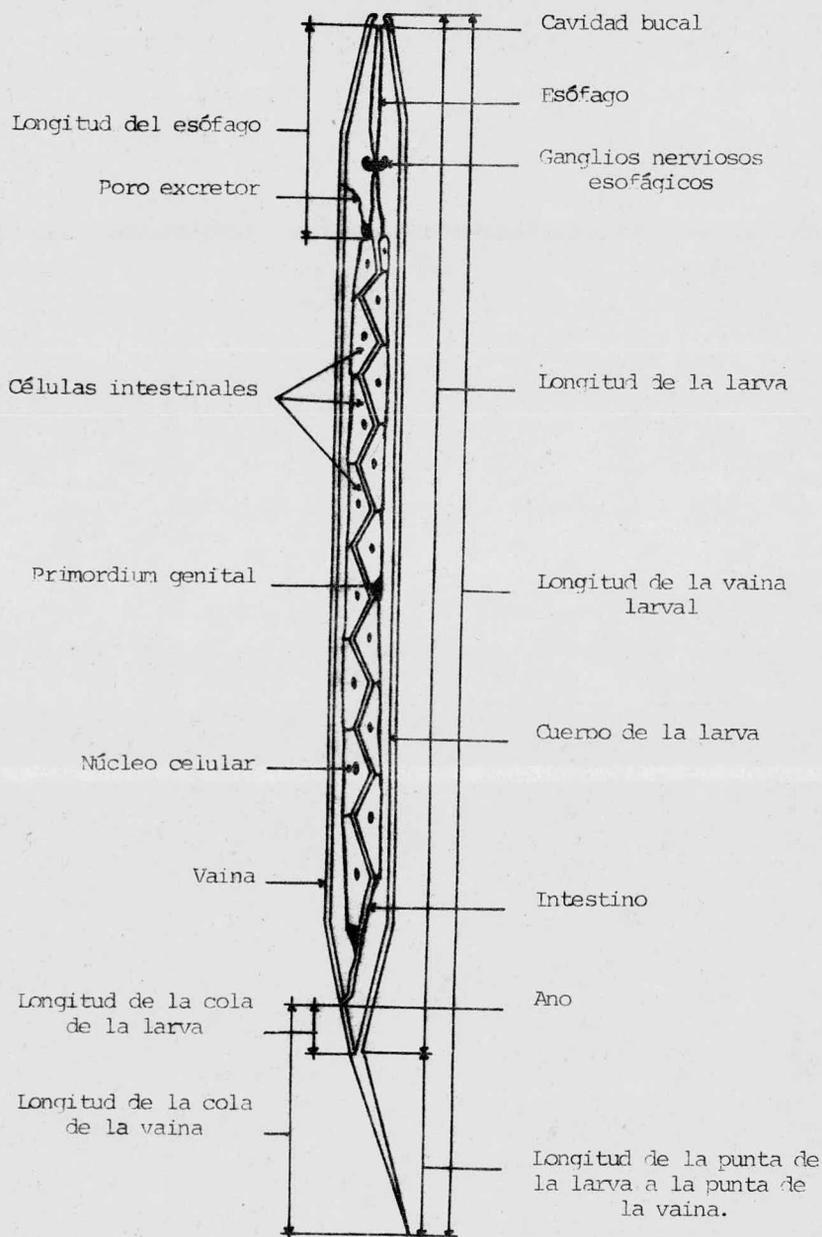


Fig. 1. Esquema de la larva infectante de *H. contortus*.

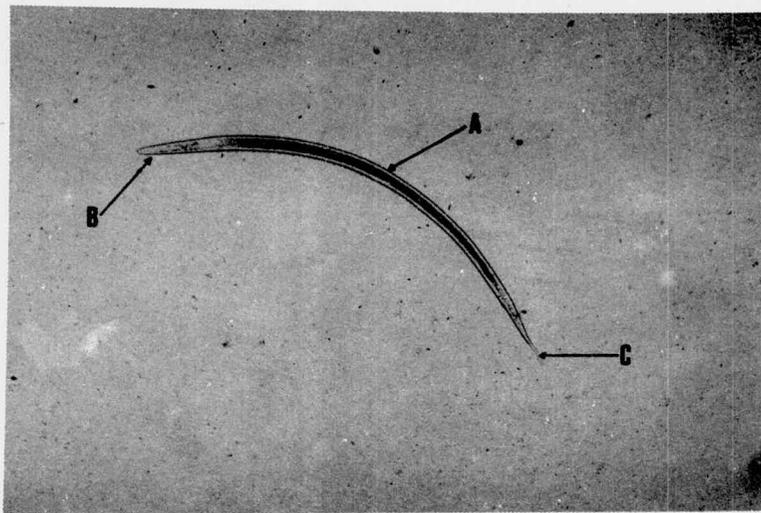


Fig. 2. Larva infectante de *H. contortus*: Vista general. A, Vaina; B, Extremidad anterior; C, Cola de la vaina. (100 X).

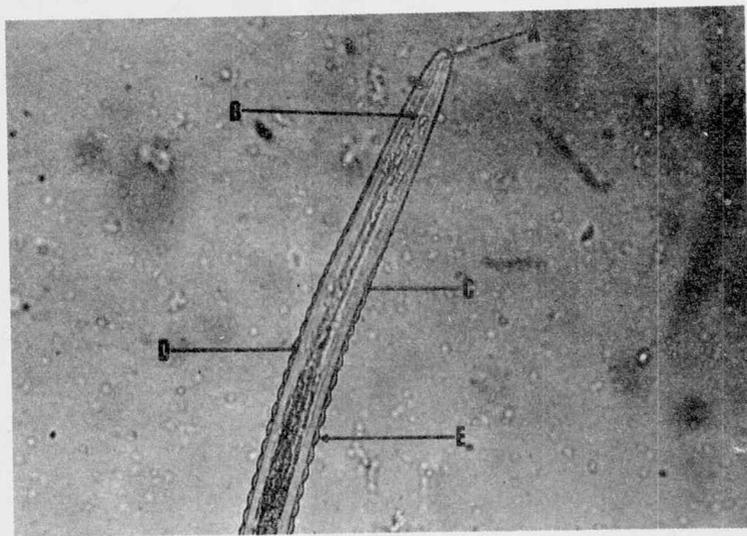


Fig. 3. Larva infectante de *H. contortus*: Extremidad anterior. A, Cavidad bucal; B, Esófago; C, Poro excretor; D, Cuerpo de la larva; E, Vaina. (250 X).

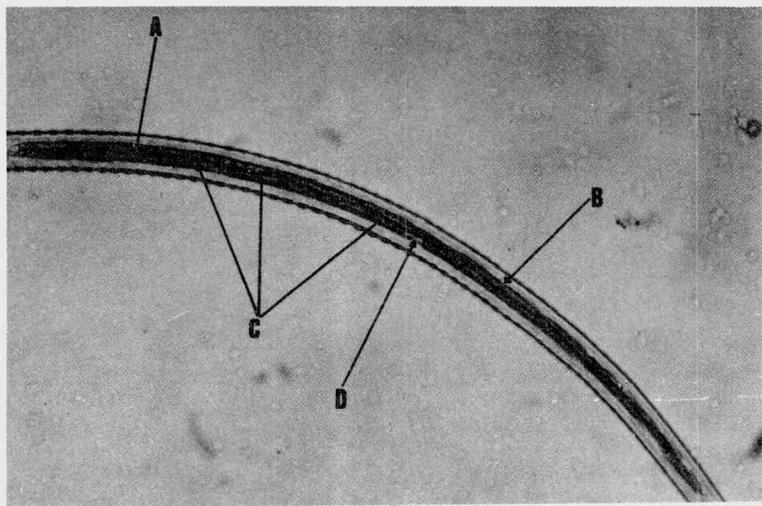


Fig. 4. Larva infectante de *H. contortus*: A, Intestino; B, Núcleo celular; C, Células intestinales; D, Primordium genital. (250 X).

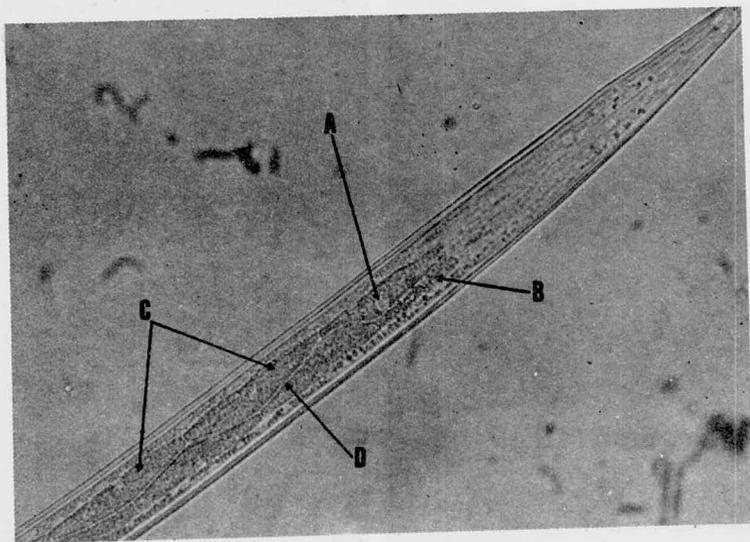


Fig. 5. Larva infectante de *H. contortus*: A, Núcleo celular; B, Primer célula intestinal; C, Células intestinales; D, Intestino. (400 X).

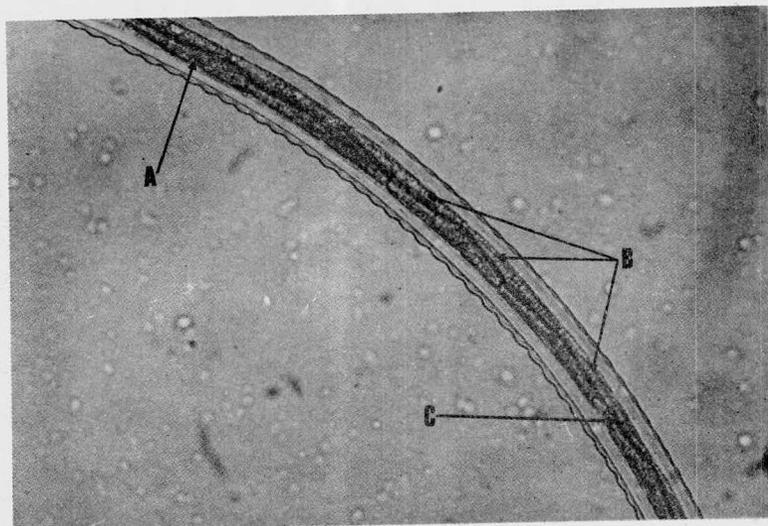


Fig. 6. Larva infectante de *H. contortus*: A, Núcleo celular; B, Últimas células intestinales; C, Intestino. (400 X).

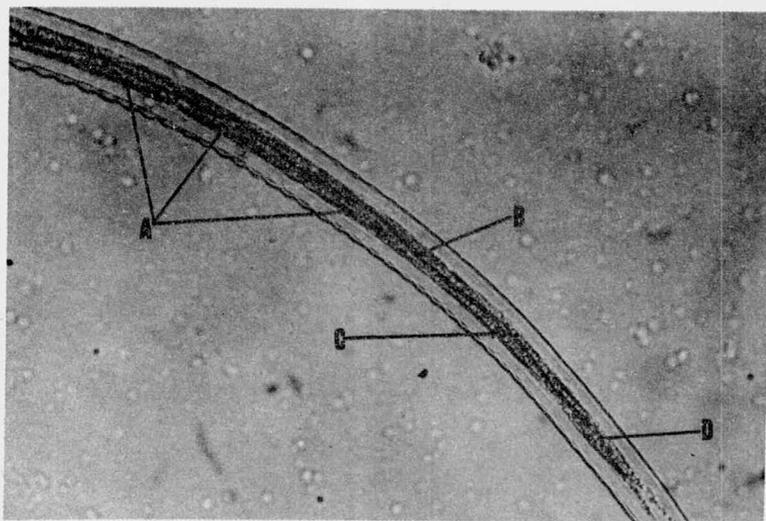


Fig. 7. Larva infectante de H. contortus: A, Células intestinales; B, Intestino; C, Núcleo celular; D, Última célula intestinal. (400 X).

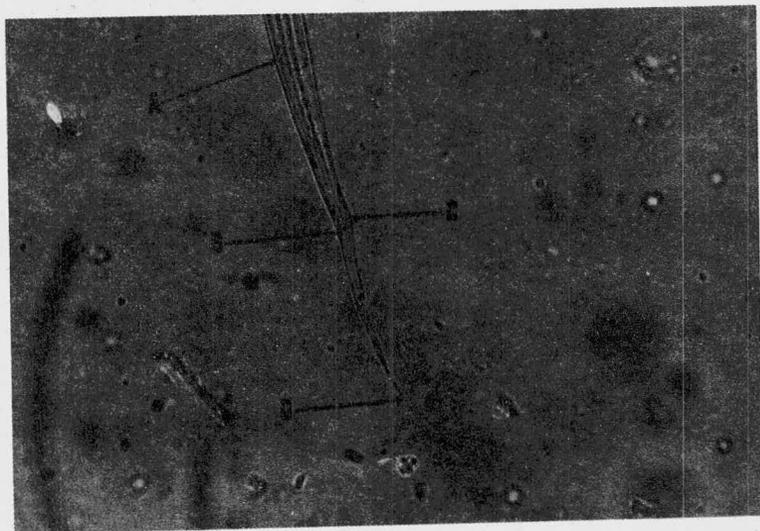


Fig. 8. Larva infectante de *H. contortus*: Extremidad posterior. A, Ano; B, Punta de la larva; C, Fractura de la cola de la vaina; D, Punta de la vaina. (400 X).

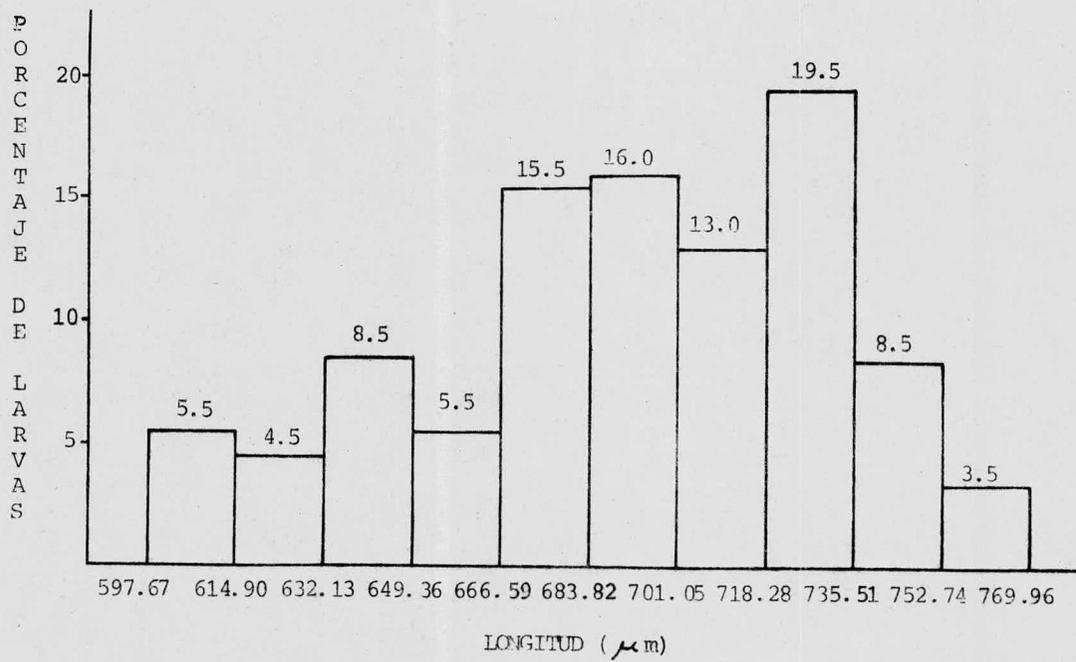


Fig. 9. Larva infectante de H. contortus. Distribución de frecuencias de la longitud de la vaina larval.

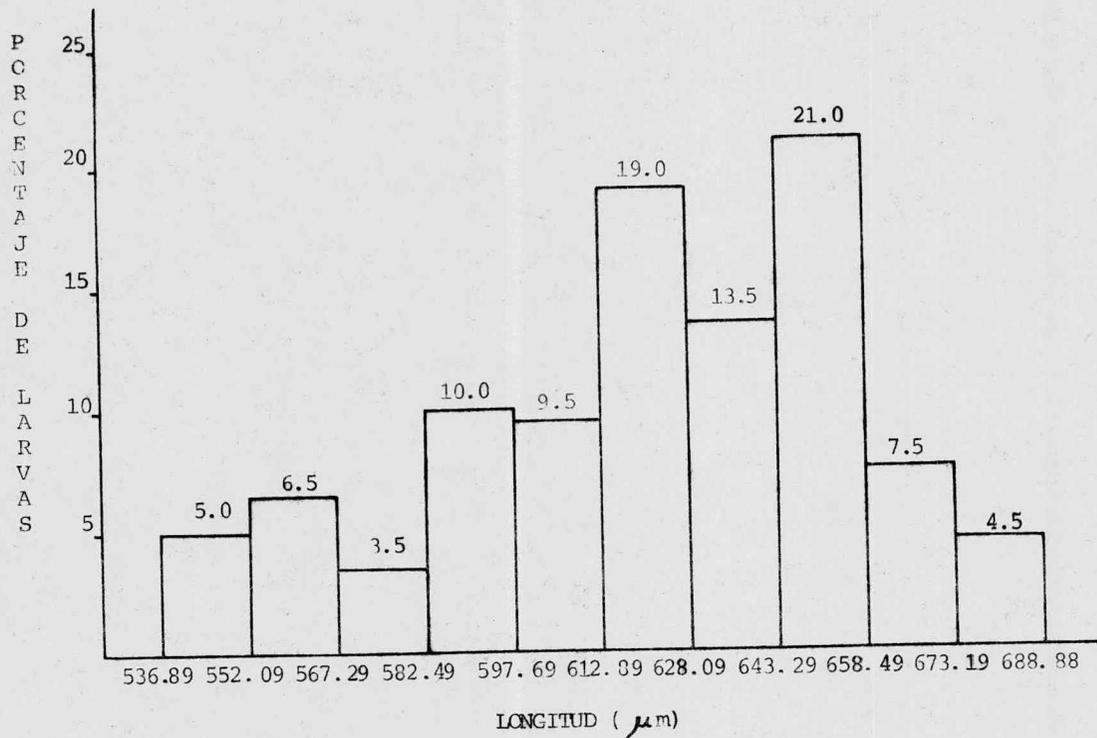


Fig. 10. Larva infectante de H. contortus. Distribución de frecuencias de la longitud de la larva.

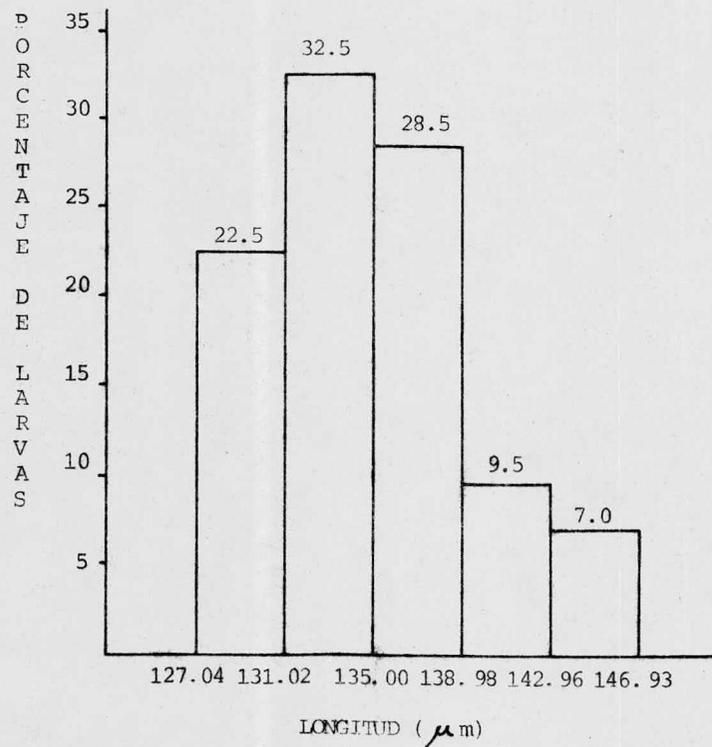


Fig. 11. Larva infectante de H. contortus. Distribución de frecuencias de la longitud del esófago.

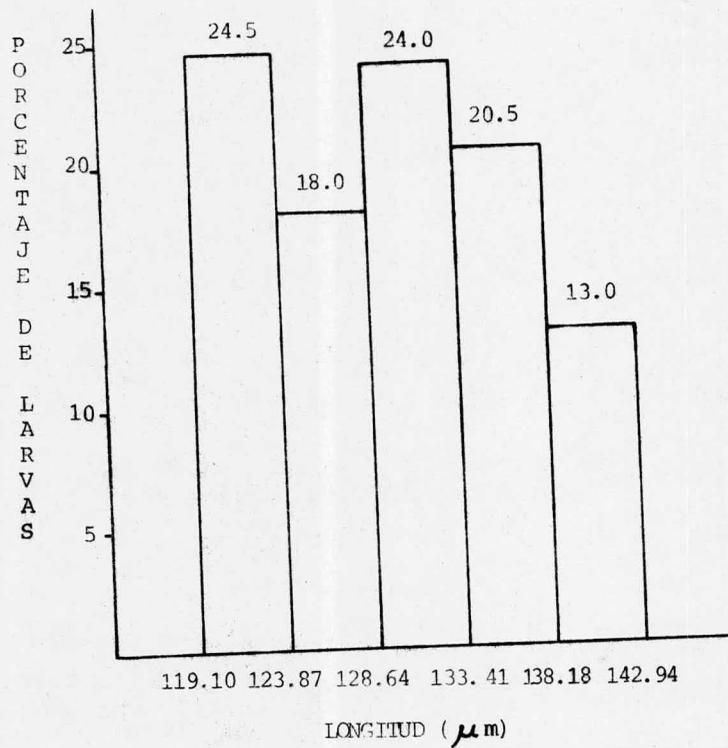


Fig. 12. Larva infectante de H. contortus. Distribución de frecuencias de la longitud de la cola de la vaina.

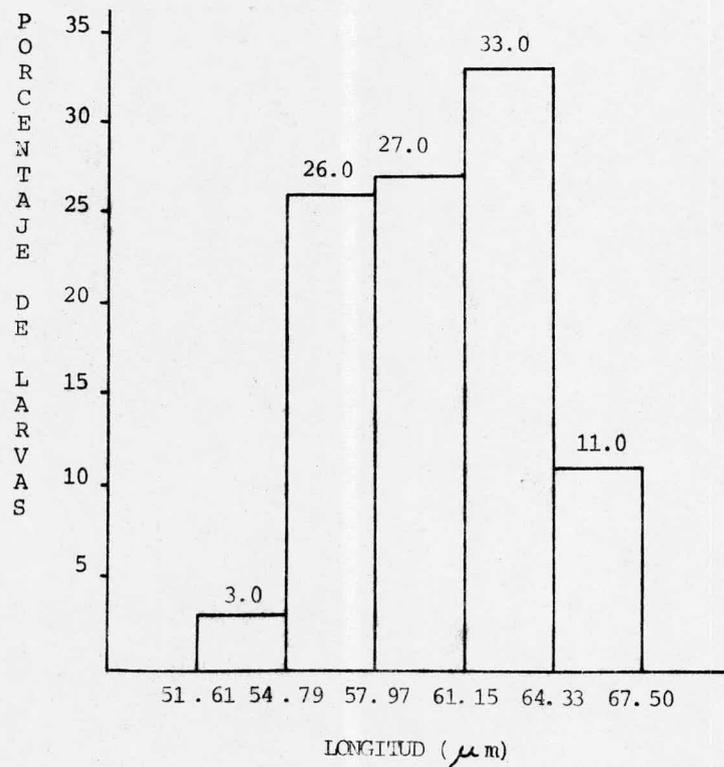


Fig. 13. Larva infectante de H. contortus. Distribución de frecuencias de la longitud de la cola de la larva.

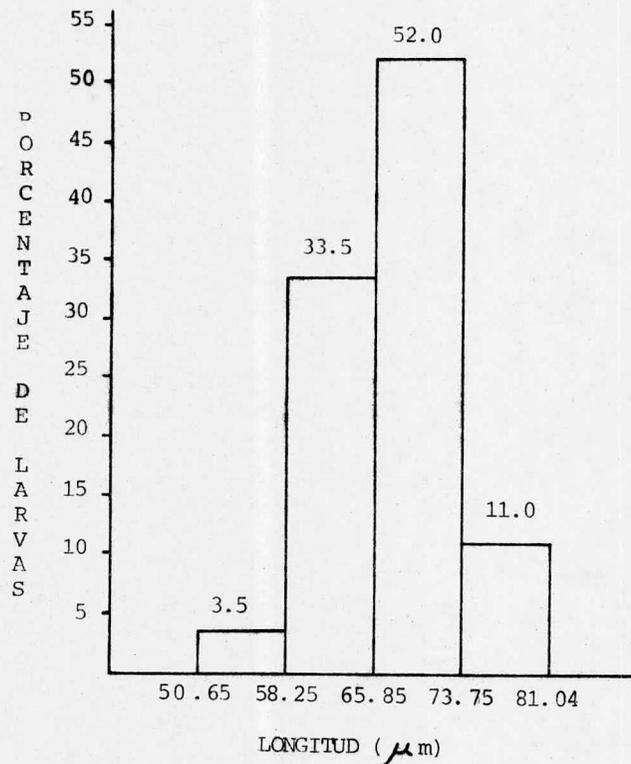


Fig. 14. Larva infectante de *H. contortus*. Distribución de frecuencias de la longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina.

CUADRO 1

MEDIDAS (μm) OBTENIDAS DE 200 LARVAS INFECTANTES DE H. contortus.

	L.V.L. (a)	L.L. (b)	L.E. (c)	L.C.V. (d)	L.C.L. (e)	L.P.L.-P.V. (f)
MINIMA	597.67	536.89	127.04	119.10	51.61	50.65
MAXIMA	769.88	688.84	146.89	142.92	67.49	81.04
MEDIA	691.01	622.95	136.56	129.93	60.46	67.92
D.E. (g)	39.90	36.18	4.92	6.19	4.15	7.14

a) Longitud de la vaina larval, b) Longitud de la larva, c) Longitud del esófago, d) Longitud de la cola de la vaina, e) Longitud de la cola de la larva, f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, g) Desviación estándar.

CUADRO 2

MEDIDAS OBTENIDAS DE 70 PARASITOS ADULTOS DE H. contortus.

	MACHOS				HEMBRAS			
	MINIMA	MAXIMA	MEDIA	D.E. (i)	MINIMA	MAXIMA	MEDIA	D.E.
L.T. (a)	11.193 mm	15.265 mm	12.721 mm	1.184 mm	18.021 mm	26.001 mm	22.470 mm	1.841 mm
L. Eso. (b)	1.251 mm	1.408 mm	1.311 mm	.050 mm	1.408 mm	1.564 mm	1.478 mm	.046 mm
L.A.O. - P.C. (c)	283.64 μ m	334.20 μ m	307.94 μ m	16.44 μ m	334.20 μ m	445.72 μ m	394.56 μ m	32.26 μ m
L. Esp. (d)	395.07 μ m	435.59 μ m	411.27 μ m	13.74 μ m				
L.G.D. - P.E. (e)	37.5 μ m	47.50 μ m	42.41 μ m	2.62 μ m				
L.G.I. - P.E. (f)	17.5 μ m	27.50 μ m	21.96 μ m	2.44 μ m				
L.V. - P.C. (g)					3.390 mm	4.042 mm	3.773 mm	.165 mm
L.A. - P.C. (h)					354.55 μ m	476.11 μ m	412.87 μ m	37.38 μ m

a) Longitud total, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, d) Longitud de las espículas, e) Longitud del gancho derecho a la punta de las espículas, f) Longitud del gancho izquierdo a la punta de las espículas, g) Longitud de la vulva a la punta de la cola, h) Longitud del ano a la punta de la cola, i) Desviación estandar.

CUADRO 3

COMPARACION DE MEDIDAS (μm) OBTENIDAS POR DIFERENTES AUTORES, DE LA LARVA INFECTANTE DE
H. contortus.

AUTORES	L.V.L. (a)			L.E. (b)			L.C.V. (c)			L.C.L. (d)			L.P.L.-P.V. (e)		
	MIN(f)	MAX(g)	\bar{X} (h)	MIN.	MAX.	\bar{X}	MIN.	MAX.	\bar{X}	MIN.	MAX.	\bar{X}	MIN.	MAX.	\bar{X}
Veglia (36)	715			175			130			60					
Morgan (24)							132			60			70	84	
Monnig (22)	694	772	733	127	145	141	145	165	149	63	71	67			
Dikmans y Andrews (9)	650	751	693	122	150	141	119	146	134	54	68	61	65	78	
Keith (18)*	749	866					158	193					87	119	
Hansen y Shivnani (15)*	682	730	739				97	142	118				55	82	66
Gevrey, Takashio y Ruzsaby (13)	600	730	665				100	150	125	55	75	65	50	80	62
Corticelli y Lai (7)	628	787	709				122	149	134				67	81	74
Niec (27)	675	761		90	140		124	168							
Raynaud, William y Brunault (30)	657	733	695				125	149	137				60	73	66
Pacenovskiy y Krupicer (28)*	760	910					162	198					90	116	
Abdel-Gawad (1)	650	780		125	160								60	82	
Borgsteede y Hendriks (5)	633	764	724				115	139	129				59	83	68
Ikedinachuku Ikeme y Dike (17)*	740	840	793				155	187	169				90	115	100
Presente estudio	597	769	691	127	146	136	119	142	129	51	67	60	50	81	67

a) Longitud de la vaina larval, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la cola de la vaina, d) Longitud de la cola de la larva, e) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, f) Mínima, g) Máxima, h) Media, * Cepa de origen bovino.

C U A D R O 4

COMPARACION DE MEDIDAS OBTENIDAS POR DIFERENTES AUTORES, DEL PARASITO ADULTO DE
H. contortus.

AUTORES	M A C H O S					
	L.T. (a)	L. Eso. (b)	L.A.O.-P.C. (c)	L. Esp. (d)	L.G.D.-P.E. (e)	L.G.I.-P.E. (f)
Roberts, Turner y Mc Kevett (32)				menos de 440 μ m	menos de 44 μ m	menos de 24 μ m
Herlich, Porter y Knight (16)				398 - 431 μ m	41 - 46 μ m	21 - 24 μ m
Gibbons (14)	8.21-19.0mm	0.823-2.168mm	259 - 475 μ m	381 - 550 μ m	29 - 65 μ m	14 - 38 μ m
Levine (21)	10 - 20 mm		300 - 500 μ m			
Presente estudio X (g)	12.72 mm	1.311 mm	307 μ m	411 μ m	42 μ m	21 μ m

a) Longitud total, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, d) Longitud de las espículas, e) Longitud del gancho derecho a la punta de la espícula, f) Longitud del gancho izquierdo a la punta de la espícula, g) Media.

C U A D R O 5

COMPARACION DE MEDIDAS OBTENIDAS POR DIFERENTES AUTORES, DEL PARASITO ADULTO DE
H. contortus.

AUTORES	H E M B R A S				
	L.T. (a)	L. Eso. (b)	L.A.O.-P.C. (c)	L.V.-P.C. (d)	L.A. - P.C. (e)
Gibbons (14)	12.34-30.50mm	1.025-1.810mm	216 - 480 μ m	1.92 - 5.57 mm	310 - 719 μ m
Levine (21)	18 - 30 mm		400 - 680 μ m	3 - 4 mm	
Presente estudio \bar{X} (f)	22.47 mm	1.478 mm	394 μ m	3.73 mm	412 μ m

a) Longitud total, b) Longitud del esófago, c) Longitud de la abertura oral a las papilas cervicales, d) Longitud de la vulva a la punta de la cola, e) Longitud del ano a la punta de la cola, f) Media.

DISCUSION

Además de los 5 parámetros fundamentales, que utilizan la mayoría de los autores en la identificación de larvas infectantes, en este estudio se incluyó otra característica fácil de observar y medir al microscopio (Longitud de la cola de la larva); asimismo, se describió toda la morfología del tercer estadio larvario de H. contortus, con el fin de permitir un diagnóstico más preciso de esta larva, dado que en ocasiones su identificación se hace de manera errónea. Un ejemplo común, es confundir larvas muy pequeñas de Ostertagia spp., con especímenes grandes de H. contortus; sin embargo, si se miden correctamente las características morfométricas y se observa detalladamente la morfología de ambas larvas, principalmente la forma redondeada de la extremidad anterior y la cola de la vaina alargada y terminada en punta fina en la L₃ de H. contortus, se diferencia sin dificultad de la larva de Ostertagia spp. Se debe tomar en cuenta que no sólo con las medidas se llega a una identificación larvaria, si no que hay que considerar también la morfología, para dar un diagnóstico certero.

Algunos investigadores reportan a características morfológicas, que no fueron incluidas en este trabajo por ser de difícil observación, tal es el caso de la longitud de la abertura oral al primordium genital: - Veglia (36), obtuvo para este parámetro 390 μm en su longitud; Mönning (22), señaló una longitud de 353 a 380 μm con una media de 360 μm y Dikmans y Andrews (9), observaron una longitud de 310 a 385 μm con un promedio de 345 μm . También la presencia de una pequeña placa quitinosa, localizada inmediatamente después de la cavidad bucal, descrita por Soulsby (34) y Niec (27); así como la forma y tamaño de los gan-

glios nerviosos esofágicos, mencionados por Villaseñor (37).

Gevrey, Takashio y Euzéby (13), al trabajar con larvas infectantes de H. contortus tomaron en cuenta el ancho total, obteniendo una longitud de 20 a 25 μm con una media de 22.5 μm . En el presente estudio se piensa que este parámetro es poco práctico, por las diferencias tan pequeñas que existen, entre los distintos géneros de nemátodos gastroentéricos.

El tamaño de las células intestinales indicada por Dikmans y Andrews (9), de las cuales obtuvieron una longitud de 50 μm pro 6 μm de ancho; tampoco se considera práctico, dado que en algunos géneros no es posible observar las células claramente y en ocasiones, tampoco se pueden medir por las diferentes formas que presentan.

La mayoría de los autores que describen a la larva infectante de H. contortus, mencionan la presencia de una factura o "cola de bayoneta", como característica morfológica diferencial de los otros géneros de L3; empero, esta torcedura en ocasiones no se observa o también se puede encontrar en la larva infectante de Mecistocirrus digitatus y Ostertagia ostertagi. Para evitar una identificación equivocada, se debe tomar con reserva la presencia o ausencia de esta característica, en la larva infectante de Haemonchus contortus.

En el cuadro 3, se comparan los valores obtenidos en el presente trabajo, con las mediciones citadas por distintos investigadores; observando pequeñas diferencias en términos generales, a excepción de algunas medidas en donde incluso los resultados son los mismos: longitud mínima del esófago con 127 μm , reportada por Mönnig (22); longitud mínima de la cola de la vaina con 119 μm , señalada por Dikmans y Andrews (9); promedio de la longitud de la cola de la vaina con 129 μm , obtenida por Bor-

gsteede y Hendriks (5); promedio de la longitud de la cola de la larva con $60\ \mu\text{m}$, citada por Veglia (36) y Morgan (24); longitud mínima de la punta de la larva a la punta de la vaina con $50\ \mu\text{m}$, mencionada por Gevrey, Takashio y Euzéby (13) y longitud máxima de la punta de la larva a la punta de la vaina con $81\ \mu\text{m}$, indicada por Corticelli y Iai (7).

Cabe señalar que varias de las medidas que se obtuvieron en este estudio, resultaron menores a las descritas por los autores incluidos en el cuadro 3: longitud mínima de la vaina larval con $597\ \mu\text{m}$, promedio de la longitud del esófago con $136\ \mu\text{m}$, longitud mínima de la cola de la larva con $51\ \mu\text{m}$, longitud máxima de la cola de la larva con $67\ \mu\text{m}$. A este respecto se ha mencionado que la variación en el tamaño del tercer estadio larvario, puede estar influenciado por diferentes factores ambientales o por el propio huésped del parásito.

Shumard, Herrick y Pope (33), observaron que las larvas infectantes de H. contortus, cultivadas a partir de huevos de parásitos de un ovino que había recibido una ración suplementada con elementos traza, fueron significativamente de mayor tamaño que las que se obtuvieron a partir de nemátodos colectados de un ovino, que no había recibido este tipo de suplementación. Premvati y Ial (29), demuestran que hay variaciones en la estructura interna y en las dimensiones de las I_3 de Oesophagostomum columbianum, si éstas son cultivadas a diferentes temperaturas.

Sculsky (34), considera que el tamaño del tercer estadio larvario, está influido por la humedad y cantidad de alimento, que se encuentre presente en el medio de cultivo. Niec (27), menciona que las larvas recuperadas del pasto, son generalmente más grandes que las obtenidas mediante coprocultivos y hace referencia a la selección natural, dado que

en el medio ambiente sólo sobrevivieran las larvas grandes y robustas. - El mismo autor observó que las larvas infectantes conservadas durante - periodos prolongados en refrigeración, se deforman en sus dimensiones y morfología, principalmente de sus células intestinales.

Wang (39), señala que existe una diferencia en el tamaño de las - larvas infectantes de Trichostrongylus colubriformis, dependiendo de las especies bacterianas que se encuentren en los cultivos. En una revisión bibliográfica realizada por Ali (2), demuestra que el uso de distintas - técnicas de coprocultivo, tienden a variar el número de larvas recuperadas, pero no tienen un efecto marcado en sus dimensiones; estos resultados fueron obtenidos utilizando heces estériles (7, 15, 18), musgo sphagnum (5) y hule-espuma (2).

García y Mejía (11), al utilizar unicel-solución salina fisiológica, heces estériles y agar-solución salina fisiológica, como sustratos - de cultivo para L₃ de Mecistocirrus digitatus, reportaron que las medidas y el número de larvas recuperadas, variaban en los diferentes medios; además, observaron que las larvas más grandes provenían del cultivo con heces estériles.

En el cuadro 3, hay una marcada diferencia en las mediciones señaladas por Keith (18), Pacenovsky y Krupicer (28) e Ikedinachuku, Ikeme y - Dike (17), con las obtenidas por el resto de los autores incluyendo nuestro estudio; esto se debe a que los investigadores antes mencionados, midieron y describieron la cepa de origen bovino H. placei y no la cepa - ovina H. contortus. Hansen y Shivmani (15), destacaron que las larvas - infectantes de Haemonchus provenientes de bovinos, median 739 μ m en el promedio de la longitud de la vaina larval; siendo más grandes que las - larvas de origen ovino reportadas por Dikmans y Andrews (9), las cuales

presentaron una media de 693 μm , en la longitud de la vaina larval. - Keith (18), al comparar al tercer estadio larvario de Haemonchus provenientes de ovinos y bovinos, demostró que ésta última es más grande, robusta y la cola de la vaina termina en un filamento más largo.

Lo cierto es que todavía existe gran controversia sobre la diferenciación de las especies placei y contortus del género Haemonchus, tanto en el parásito adulto como en el tercer estadio larvario. Roberts, Turner y Mc Kevett (32), aseguran que la cepa bovina pertenece a la especie H. placei y la cepa ovina a H. contortus, basándose principalmente en las diferencias que presentaban en la longitud de las espículas, longitud de los ganchos derecho e izquierdo a la punta de las espículas, - susceptibilidad de los dos huéspedes a las infecciones con las dos especies, tamaño y forma del proceso vulvar y el tamaño de las larvas infectantes. En relación al tercer estadio larvario, los mismos autores obtuvieron para H. contortus menos de 760 μm en la longitud de la vaina larval y menos de 155 μm en la longitud de la cola de la vaina; en lo que se refiere a las larvas de H. placei, reportaron más de 760 μm en la longitud de la vaina larval y más de 155 μm en la longitud de la cola de la vaina.

Le Jambre (20), al realizar estudios de hibridación con H. contortus y H. placei, logra obtener generaciones híbridas; sin embargo, el resultado de hacer cruza entre estos parásitos, tuvieron como consecuencia una reducida fertilidad en las hembras con la eliminación de huevos anormales y una grave deformación en las espículas de los machos. En cuanto a las dimensiones que indica el mismo autor, para las larvas infectantes híbridas, éstas no dan una explicación a la herencia de sus medidas, dado que los resultados variaban según el cruzamiento utilizado;

hembras de H. placei con machos de H. contortus o viceversa.

Gibbons (4), al hacer una revisión del género Haemonchus, señala que H. placei no puede ser diferenciado de H. contortus en base a características morfológicas, como es el porcentaje que presentan las distintas formas del proceso vulvar, ya que éstas pueden variar dependiendo de la edad, resistencia del huésped y especie animal en las que se establezca el nemátodo; asimismo, opina que las mediciones realizadas en el parásito adulto y en la larva infectante para distinguir a ambas especies, no son decisivas dado que en muchas ocasiones estas medidas se confunden. El mismo autor no niega que existen diferencias biológicas entre H. contortus y H. placei, pero se apoya en experimentos hechos con otros helmintos, en donde la misma especie parasitaria, puede presentar una biología diferente en dos huéspedes distintos, por lo que considera a H. placei como sinónimo de H. contortus.

Este trabajo, concuerda con la morfología citada por Gibbons (14), Herlich, Porter y Knight (16), Levine (21), Roberts, Turner y Mc Kevett (32), Whitlock (38) y Yamaguti (40), para el parásito adulto de H. contortus; sin embargo, dada la gran variación morfológica del proceso vulvar que presentaron los nemátodos aquí identificados y todas las subespecies y variedades que se reconocen para H. contortus, se acepta la propuesta de Gibbons (14), en cuanto a la variabilidad morfológica de este proceso.

Al comparar los resultados de las medidas obtenidas en el parásito adulto del presente estudio, con los reportes de los autores señaladas en el cuadro 4 y 5, se observó que todas las dimensiones coinciden, por lo tanto dicho nemátodo pertenece al género y especie Haemonchus contortus.

CONCLUSIONES

1.- Considerando que las claves de identificación para las larvas infectantes de H. contortus utilizadas en México, provienen de otros -- países, el haber caracterizado morfométricamente especímenes autóctonos, con la inclusión de otra medida más (longitud de la larva) y con la complementación de los histogramas de distribución de frecuencias; confiere a estos resultados, un valor práctico y preciso para la identificación -- de esta larva.

2.- Las medidas obtenidas fueron las siguientes: a) Longitud de la vaina larval, $\bar{X} 691 \pm 39 \mu\text{m}$; b) Longitud de la larva, $\bar{X} 622 \pm 36 \mu\text{m}$; c) Longitud del esófago, $\bar{X} 136 \pm 4 \mu\text{m}$; d) Longitud de la cola de la -- vaina, $\bar{X} 129 \pm 6 \mu\text{m}$; e) Longitud de la cola de la larva, $\bar{X} 60 \pm 4 \mu\text{m}$; y f) Longitud de la punta de la larva a la punta de la vaina, $\bar{X} 67 \pm 7 \mu\text{m}$. Las principales características morfológicas observadas fueron: a) extre-- midad anterior redondeada, b) cavidad bucal globular, c) intestino bor-- deado por 16 células intestinales, d) cola de la larva con punta cónica y e) cola de la vaina en forma de filamento y con una desviación, dando aspecto de bayoneta.

3.- Al comparar los resultados del presente estudio, con la morfo-- logía y medidas obtenidas por otros autores, se observaron pequeñas dife-- rencias en las dimensiones; sin embargo, también es cierto que hay simi-- litud entre éstas, por lo que se considera a estas mediciones y descrip-- ciones, como características propias de la larva infectante de Haemon-- chus contortus.

LITERATURA CITADA

- 1.- Abdel-Gawad, A.F.: Differential diagnosis of gastrointestinal strongylosis of sheep in Egypt through the free living third stage larvae. J. Egyptian Vet. Ass., 34: 212-227 (1974).
- 2.- Ali, Y.O.: The identification of the infective larvae of some nematode parasites of cattle by the fecal culture method. Thesis for degree of Master of Science; Colorado State University. Fort Collins Colorado, Fall, U.S.A., 1980.
- 3.- Beltrán, S.J.L.: Valoración de seis técnicas de coprocultivo para Haemonchus contortus, Tesis de licenciatura. F.E.S. Cuautitlán. -- Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Edo. de México, 1984.
- 4.- Borchert, A.: Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1975.
- 5.- Borgsteede, F.H.M. and Hendriks, J.: Identification of infective larvae of gastrointestinal, nematodes in cattle. Tijdschr. Diergeneesk., 99 (2): 103-113 (1974).
- 6.- Casas, G.J.A.: Estudio bibliográfico de la parasitología en ovinos de México, Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1977.
- 7.- Corticelli, B. and Iai, M.: Diagnosis of the infestation type in gastrointestinal strongylosis of cattle in Sardinia by differentiation of the infective larvae. Vet. Italiana., 15: 214-235 (1964). - Cit. por Ali (2).

- 8.- Daniel, W. Wayne: Bioestadística. Base para el Análisis de las -
Ciencias de la Salud. Editorial Limusa, México, 1977.
- 9.- Dikmans, G. and Andrews, J. S.: A comparative morphological study
of the infective larvae of the common nematodes parasitic in the -
alimentary tract of sheep. Trans Amer. Microsc. Soc., 52 (I): 1-
25 (1933).
- 10.- Dunn, A. M.: Veterinary Helminthology. 2nd ed. William Heinemann -
Medical Books L.T.D., London, 1978.
- 11.- García, O. M. A. y Mejía, G. R. A.: Contribución al estudio morfo-
lógico del tercer estadio larvario (L₃) del nemátodo abomasal, Me-
cistocirrus digitatus. Memorias de la Reunión de Investigación Pe-
cuaria en México 1983. México, D.F., 1983. 304-309. S.A.R.H. -
U.N.A.M., México, D.F. (1983).
- 12.- Georgi, J. R.: Parasitology for Veterinarians. 3rd ed. W. B. Saun-
ders Company, Philadelphia, Pa., 1980.
- 13.- Gevrey, J., Takashio, M. et Euzéby, J.: Identification des stron-
gles digestifs des ruminants par les caractères de diagnose de --
leurs larves infestantes. Bull. Soc. Sci. Vét. Méd. Comp. Lyon.,
66: 133 (1964). Cit. por Borgsteede y Hendriks (5).
- 14.- Gibbons, M. L.: Revision of the genus Haemonchus Cobb, 1898 (Nema-
toda: Trichostrongylidae). Systematic Parasitology, I: (1) 3-24 -
(1979).
- 15.- Hansen, M.F. and Shivnani, G.A.: Comparative morphology of infecti-
ve nematode larvae of Kansas beef cattle and its use in estimating
incidence of nematodiasis in cattle. Trans. Amer. Microsc. Soc., -

- 75: 91-102 (1956). Cit. por Ali (2).
- 16.- Herlich, J. H., Porter, D. A. and Knight, R.A.: A study of Haemonchus in cattle and sheep. Am. J. Vet. Res., 19: 866-872 (1958).
- 17.- Ikedinachuku, O., Ikeme, M. M. and Dike, S. I.: The identification of the infective larvae of some strongylate nematode parasites of the indigenous Nigerian cattle by the faecal culture method. Bull. Epizoot. Dis. Afri., 26: 132-141 (1978).
- 18.- Keith, R. K.: The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. Aust. J. Zool., I: (2) 223--235 (1953)
- 19.- Lapage, G.: Parasitología Veterinaria. C.E.C.S.A., México, D.F., - 1981.
- 20.- Le Jambre, L. F.: Hybridization studies of Haemonchus contortus - (Rudolphi, 1803) and H. placei (Place, 1893) (Nematoda: Trichostrongylidae). International Journal for Parasitology., 9 (5): 455 - 463 (1979).
- 21.- Levine, N. D.: Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man. 2nd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota, 1980.
- 22.- Mönnig, H.O.: The Specific Diagnosis of Nematode Infestation in - Sheep. 17 th Annual Report of the Director of Veterinary Services - and Animal Industry, Onderstepoort, Pretoria, Union of South Africa.: 255-264 (1931). Cit. por Dikmans y Andrews (9).
- 23.- Morales, C. G. A. y Pino, C. L. A.: Manual de Diagnóstico Helmintológico en Rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela, 1977.

- 24.- Morgan, D. O.: On the Differential Diagnosis of the Larvae of Some Helminth Parasites of sheep and Goats. J. Helminth., 8: 223-228 (1930). Cit. por Dikmans y Andrews (9).
- 25.- Morilla, G.A.: Inmunodiagnóstico. Memorias del Curso de Actualización en Inmunoparasitología Veterinaria. México, D.F., 1980. 45-59. F.M.V.Z. - U.N.A.M. - I.N.I.P. - S.A.R.H., México, D.F. (1980).
- 26.- Nemeséri, L. y Holló, F.: Diagnóstico Parasitológico Veterinario. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1961.
- 27.- Niec, R.: Cultivo e identificación de larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales del bovino y ovino. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina, 1968.
- 28.- Pacenovsky, J. and Krupicer, I.: Differentialdiagnostik der invasions larven der gastro - intestinalen nematoden beim Rind. Folia Vet., 16: 121 (1972). Cit. por Ali (2).
- 29.- Premvati, J. and Lal, S.S.: Effect of high temperature on the infective larvae of Oesophagostomum columbianum, Curtice 1890. J. Parasit., 47: 943-946 (1961).
- 30.- Raynaud, J.P., William, G. and Brunault, G.: Ruminants Parasitism. Practical techniques for the identification of "Digestive Strongyles" and parasitic forms excreted in the faeces. Laboratories Pfizer-Clin, Paris, France, 1969.
- 31.- Roberts, F. H.S. and O'Sullivan, P. J.: Methods for egg counts and larval culture for strongyles intesting the gastrointestinal tract of cattle. Aust. J. Agric. Res., I 99-102 (1949).

- 32.- Roberts, F. H. S., Turner, H. N. and Mc Kevett, M.: On the specific distinctness of the ovine and bovine "Strains" of Haemonchus contortus (Rudolphi) Cobb (Nematoda: Trichostrongylidae). Aust. J. Zool., 2 (2): 275 - 295 (1954).
- 33.- Shumard, R.F., Herrick, C. A. and Pope, A. L.: The effect of diet on the length of third stage larvae produced by adult Haemonchus contortus harbored by lambs. J. Parasit., 41: 542 (1955). Cit. por Borgsteede y Hendriks (5).
- 34.- Soulsby, E.J.L.: Textbook of Veterinary Clinical Parasitology. Volume I Helminths. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1965.
- 35.- Tarazona, V. J. M.: Manual de Técnicas de Parasitología Veterinaria (Traducido al español del Laboratorio Central Veterinario de Weybridge, Gran Bretaña). Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1971.
- 36.- Veglia, F.: The Anatomy and Life History of the Haemonchus contortus (Rud.). 3er and 4th Reports of the Director of Veterinary Research, Onderstepoort, Pretoria, Union of South Africa, : 349-500 (1915). Cit. por Dikmans y Andrews (9).
- 37.- Villaseñor, M. L.: Diagnóstico. Nemátodos Gastrointestinales. Seminario de Parasitología en Rumiantes. México, D.F., 1973. 17-34. A.M.P.V.A.C. y D.G.S.A. - S.A.G., México, D.F., (1973).
- 38.- Whitlock, J. H.: Diagnosis of Veterinary Parasitism. Lea & Febiger, Philadelphia, 1960.
- 39.- Wang, G. T.: Suitability of various species of microorganisms as food for the free-living stages of Trichostrongylus colubriformis.

J. Parasit., 56: (4) 753-758 (1970).

- 40.- Yamaguti, S.: Systema Helminthum. Volume III. The Nematodes of -
Vetebrates, Part. I and II. Interscience Publishers, Inc., New York,
1961.

