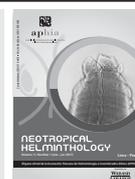




## Neotropical Helminthology



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### FIRST RECORD OF *NEMATODIRUS HELVETIANUS* MAY 1920 (NEMATODA: MOLINEIDAE) IN CATTLE FROM SOUTHERN CHILE

#### PRIMER REGISTRO DE *NEMATODIRUS HELVETIANUS* MAY 1920 (NEMATODA: MOLINEIDAE), EN BOVINOS DEL SUR DE CHILE

Alejandro Hidalgo Zúñiga<sup>1,2,3\*</sup>; Gastón Valenzuela Jaramillo<sup>5</sup>;  
Flery Fonseca-Salamanca<sup>1,2</sup> & Carlos Oberg Aravena<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunoparasitología Molecular, Centro de Excelencia en Medicina Traslacional, CEMT, Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>2</sup>Programa de Doctorado en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>3</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Santo Tomás, sede Temuco, Chile

<sup>4</sup>Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Católica de Temuco, Chile.

<sup>5</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Católica de Temuco, Chile.

\*Correo electrónico: jose.hidalgo@ufrontera.cl Teléfono:+56 45 2596595 Código Postal: 4780000

## ABSTRACT

*Nematodirus helvetianus* May 1920 (Nematoda: Molineidae) is a parasitic nematode from the small intestine of several species of ruminants in temperate climates around the world and is being recognized as the most pathogenic species of the genus in cattle. Finding of the nematodes was made by applying the necropsy protocol described by Withlock in 100 cattle between 0.5 to 2.5 years old from several locations of La Araucanía in southern Chile. Based on the morphology of the reproductive system of males, the presence of *N. helvetianus* in 2% (2/100) of cattle was found with an estimated total number of 165 (5 x 33) specimens of the parasite. Nematodes were cleared in lactophenol and mounted in glycerol-gelatin. Measurements including the morphology of the spicules corresponded with differential characteristics proposed for discrimination and identification of the species. The present results constitute the first record of *N. helvetianus* in cattle from Chile, contribute new information on helminths of ruminants in this geographical location.

**Keywords:** Cattle – nematodes – *Nematodirus helvetianus* – Trichostrongylidae

## RESUMEN

*Nematodirus helvetianus* May 1920 (Nematoda: Molineidae), es un nematodo parásito del intestino delgado de diversas especies de rumiantes en climas templados alrededor del mundo, siendo reconocido como el más patógeno del género en bovinos. El hallazgo de los nematodos fue realizado aplicando el protocolo de necropsia descrito por Withlock en 100 bovinos entre 0,5 y 2,5 años de edad, procedentes de diversas localidades de La Araucanía en el sur de Chile. Basándose en la morfología del aparato reproductor de los machos, fue identificada la presencia de *N. helvetianus* en 2% (2/100) de los bovinos, con un número estimado total de 165 (5 x 33) ejemplares del parásito. Los nematodos fueron aclarados en lactofenol y montados en glicerogelatina. Tanto los rangos de medición, como la morfología de las espículas fueron coincidentes con las características diferenciales propuestas para la discriminación e identificación de la especie, constituyendo el primer registro de *N. helvetianus* en bovinos de Chile, contribuyendo con nueva información sobre las helmintiasis de los rumiantes en esta localización geográfica.

**Palabras clave:** Bovinos – *Nematodirus helvetianus* – nematodos – Trichostrongylidae

## INTRODUCCIÓN

La superfamilia Trichostrongyloidea (Orden Strongylida), agrupa a diversos géneros de nemátodos que parasitan el abomaso y el intestino delgado de los bovinos y otros rumiantes (Hendrix, 1991). En su mayoría incluye especies de tamaño pequeño, con cápsula bucal reducida o ausente, carentes de dientes y corona radiada. Los machos presentan en el extremo posterior, una bursa copulatriz bien desarrollada con amplios rayos laterales y un rayo dorsal característico de cada especie o género (Soulsby, 1987).

En Chile, varios géneros y especies que parasitan a los bovinos, tales como *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Haemonchus* y *Nematodirus*, han sido descritos en diversos estudios y revisiones locales (Tagle, 1966; Oberg *et al.*, 1974; Valenzuela *et al.*, 1992; Mehlhorn *et al.*, 1993; Alcaíno & Gorman, 1999).

En particular, el género *Nematodirus*, el cual está clasificado dentro de la familia Molineidae, corresponde a un grupo de parásitos del intestino delgado de diversos mamíferos herbívoros y que se caracterizan por presentar una prominente dilatación cefálica, la cual consiste en un abultamiento globoso de la cutícula, ubicado en el extremo anterior y que abarca la periferia de la región bucal (Meana & Rojo, 1999).

Las hembras presentan un extremo posterior truncado que posee una leve hendidura en la cual se ubica una corta y gruesa espina terminal. Por otra parte, los machos de este género presentan largas espículas filiformes fusionadas en el extremo distal y una bursa copulatriz bien desarrollada, compuesta de rayos laterales paralelos (Samuel *et al.*, 2001).

En Chile, han sido descritas dos especies del género *Nematodirus* parasitando a los bovinos: *N. spathiger* (Railliet 1896) y *N. filicollis* (Rudolphi 1802) (Alcaíno & Gorman, 1999, Gómez, 2000).

*Nematodirus helvetianus*, es una especie que parasita el intestino delgado de los bovinos, ovinos y caprinos y que hasta el momento no ha sido reportada en estas especies ganaderas de Chile (Quiroz, 2005). Los machos miden aproximadamente de 11 a 16 mm de longitud y las hembras, de 17 a 24 mm (Taylor *et al.*, 2016). Las espículas en los machos son prominentes, tienen una longitud de 0,9 a 1,25 mm y confluyen en un extremo envuelto en una membrana lanceolada, translúcida en forma romboidal. A su vez, la porción final de la espícula está dividida en tres puntas (Soulsby, 1967).

El ciclo de vida de las especies de *Nematodirus* es directo y similar al de otros nemátodos del ganado bovino, excepto que las larvas de primer y segundo estado se desarrollan dentro del huevo, hasta

alcanzar el tercer estado el cual eclosiona y tiene la capacidad de ascender a los pastos, constituyendo la forma infectante para los hospedadores (Melancon, 1999; Vignau *et al.*, 2005). Generalmente la eclosión del huevo ocurre al alcanzar temperaturas favorables cercanas a los 21°C, previo paso por una sensibilización dada por sufrir exposición prolongada y brusca frente a bajas temperaturas (Rose, 1975). Las larvas de tercer estado podrían ser viables por más de ocho meses en condiciones ambientales favorables, principalmente frente a alta humedad ambiental, aun así, son resistentes a la desecación comparadas con otras especies de tricostrongilidos y resisten las bajas temperaturas invernales (Herlich, 1954).

El objetivo del presente estudio fue describir el hallazgo de *N. helvetianus* en bovinos procedentes de la región de La Araucanía, basado principalmente en la caracterización morfológica de los elementos presentes en el aparato reproductor de los especímenes machos recolectados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en bovinos de 0,5 a 2,5 años (n=100) faenados en Nueva Imperial, región de La Araucanía (38°44'00"S 72°57'00"O, altitud: 20 msnm).

Para la recolección de los helmintos fue aplicada la técnica de necropsia descrita por Whitlock (1957), basada en la colecta total de los helmintos desde abomaso e intestino delgado de cada bovino a través del lavado de cada órgano y la extracción de 30 mL por cada litro de contenido. Este volumen fue filtrado a través de un tamiz provisto de malla de acero fosfórico de 0,5 mm y traspasado a un recipiente de colecta.

Los helmintos fueron teñidos con lugol para facilitar su recolección y la identificación se llevó a cabo mediante microscopía óptica. Para ello, se fijaron provisoriamente en portaobjetos aplicando lactofenol para su aclarado. El cálculo del número total de helmintos fue estimado multiplicando cada ejemplar identificado por el factor 33, según indica la técnica.

Para la identificación de los helmintos fueron utilizadas las claves y observaciones propuestas por Morgan & Hawkins (1949), Soulsby (1965), Dunn (1978) y Bowman (1999). La estimación de la longitud en los ejemplares y de estructuras como las espículas fue realizada mediante un programa de medición incorporado al microscopio. Los ejemplares machos recolectados fueron medidos para obtener el rango de longitud corporal y de las espículas. Adicionalmente se calculó el promedio y la desviación estándar de estas mediciones.

Los ejemplares fueron fijados en forma permanente en glicerogelatina y depositados en la colección parasitológica de la Universidad de La Frontera (Registro: Nem 153-155).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Nematodirus* es un género de helmintos cuya presencia en Chile ya ha sido citada por diversos autores (Fuentes, 1966; Tagle, 1966; Oberg *et al.*, 1974; Cifuentes, 1993, Alcaíno & Gorman 1999; Valenzuela *et al.*, 1992), los mismos autores señalan a la especie *N. spathiger* como parásito del ganado bovino, en tanto Gómez (2000), también describe la presencia de *N. filicollis* en este hospedador. Los registros geográficamente más cercanos de esta especie han sido descritos en bovinos y ovinos de Argentina (Romero & Boero, 2002, Martínez *et al.*, 2011).

En contraste, no existen hasta el momento, registros que describan la presencia de *N. helvetianus* en el ganado de esta zona, considerando, además, las características de aislamiento geográfico que este país impone a la distribución y desarrollo de diversas especies, incluidos algunos parásitos. Del total de bovinos muestreados (n=100), el hallazgo de *N. helvetianus* ocurrió en 2% (2/100) de los animales muestreados (Tabla 1), ambos, hembras de 1,5 y 1 año de edad, mestizos overo negro y overo colorado respectivamente, procedentes de la localidad de Nueva Imperial.

Los ejemplares de *N. helvetianus* colectados fueron 5, el primer bovino presentó 2 ejemplares y el segundo 3, por lo cual el número total estimado fue

de 165 ejemplares, al considerar el factor de corrección propuesto por Whitlock (1957).

El hallazgo de esta especie sólo se registró en intestino delgado, coincidiendo con las observaciones de los diferentes autores consultados quienes indican esta región anatómica como el hábitat normal de este parásito.

Soulsby (1987) y Melancon (1999) reconocen a *N. helvetianus* como la especie más patógena y común del género que parasita a bovinos en Europa y Norteamérica y que también puede afectar a ovinos. Dunn (1978), en tanto, considera que es la especie de mayor distribución a través de áreas templadas tanto en bovinos como en ovinos y la única especie del género *Nematodirus* que podría asociarse con enfermedad clínica de importancia en terneros, condición que había sido confirmada por Samizadeh-Yazd & Todd (1979), quienes observaron profundos cambios en la mucosa duodenal de vaquillas infectadas con altas cargas larvarias de este parásito, afectando a más de 70% de estas en la ganancia de peso.

Respecto a la identificación morfológica de los ejemplares en esta investigación, fue considerada la longitud de los machos de esta especie la cual, según Soulsby (1987) y Quiroz (2005), está en un rango de entre 11 a 17 mm, lo cual fue concordante con el promedio estimado de 16 mm ( $\pm 1,9$ ) entre los cinco ejemplares analizados (Tabla 1).

La longitud de las espículas según los mismos

autores, presenta un rango entre 900  $\mu\text{m}$  a 1250  $\mu\text{m}$ , en contraste, en este estudio se estimó un rango ligeramente superior, entre 1060  $\mu\text{m}$  a 1811  $\mu\text{m}$  con un promedio de 1377( $\pm 232,3$ )  $\mu\text{m}$  (Tabla 1).

Sin embargo, fueron determinados aspectos altamente coincidentes con la morfología de *N. helvetianus*, como la porción terminal de las espículas concluyen en un extremo trifurcado y el lóbulo membranoso con forma romboidal y lanceolado característico, que las envuelve a lo largo de este segmento (Fig. 1).

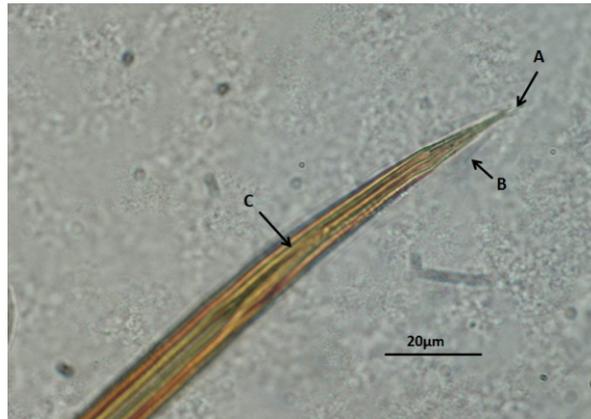
Otro aspecto que además fue observado, consistió en que la fusión de ambas espículas ocurre aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  antes de originarse el lóbulo membranoso, a diferencia de *N. filicollis* en el cual la fusión sucede a nivel del origen de esta membrana (Fig.1 y Fig.2).

La similitud entre la morfología de *N. helvetianus* y *N. filicollis* puede generar errores en la identificación de ambas especies si no se considera una observación detallada de las estructuras presentes en la espícula. Por otra parte, la similitud en la forma y disposición de los rayos bursales y el rayo dorsal hace aún más parecido el aspecto general de ambas especies.

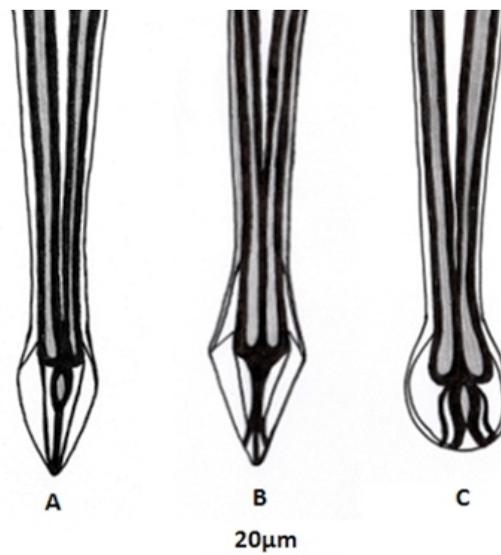
En conclusión, las evidencias morfológicas evaluadas, demuestran que *N. helvetianus* es una especie de nemátodo gastrointestinal presente en la helmintofauna de los bovinos en el sur de Chile.

**Tabla 1.** Mediciones de longitud total y de espículas en los ejemplares machos de *Nematodirus helvetianus* recolectados e identificados en bovinos del sur de Chile.

Ejemplar	Longitud ejemplar (mm)	Longitud de espículas ( $\mu\text{m}$ )
1	19	1811
2	14	1472
3	17	1312
4	16	1230
5	14	1060
Promedio/Desviación estándar	16 $\pm$ 1,9	1377 $\pm$ 232,3



**Figura 1.** Espícula de *Nematodirus helvetianus* mostrando en su extremo la porción terminal trifurcada (Flecha A) y el margen de la membrana lanceolada translúcida que flanquea el extremo terminal (Flecha B) y el lugar de fusión de ambas espículas (Flecha C).



**Figura 2.** Diagrama de la comparación morfológica de las espículas entre las tres especies más frecuentes del género *Nematodirus* que parasitan a los bovinos. A) *N. helvetianus*. B) *N. filicollis*. C) *N. spathiger* (Adaptado por Alejandro Hidalgo de Soulsby, 1965).

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al apoyo recibido en esta investigación al proyecto DIUFRO DI15-0064 y al Programa de Asistencia a Congresos Internacionales de Dirección de Cooperación Internacional de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaíno, H & Gorman, T. 1999. *Parásitos de los animales domésticos en Chile*. Parasitología al Día, vol. 23, pp. 33-41.
- Bowman, D. (ed.). 1999. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 7<sup>th</sup> ed. Ed. Mosby inc. St. Louis. USA.

- Cifuentes, H. 1993. *Identificación de nemátodos gastrointestinales de abomaso e intestino delgado de bovinos beneficiados en una planta procesadora de carnes de Valdivia. X Región de Chile*. Tesis de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Dunn, A. (Ed.). 1978. *Veterinary Helminthology*. 2<sup>nd</sup> ed., W. Heineman, Medical Books Ltd. London. UK.
- Fuentes, G. 1966. *Contribución al estudio de las helmintiasis del bovino en la provincia de Valdivia*. Tesis de Medicina Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia. Chile.
- Gómez, C. 2000. *Helmintos gastrointestinales en bovinos de la Décima Región de Chile*. Tesis de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Hendrix, C. (ed.). 1991. *Diagnostic Veterinary Parasitology*; 2<sup>nd</sup> ed. Mosby inc. St. Louis. USA.
- Herlich, H. 1954. *The life history of Nematodirus helvetianus May 1920, a nematode parasitic in cattle*. The Journal of Parasitology, vol. 40, pp. 60-70.
- Martínez, F, Rodríguez, C, García, E, Glesmann, V, Portillo & Oviedo, A. 2011. *Nematodirus helvetianus en Ovis orientalis musimon (Artiodactyla, Caprinae)*. Revista Veterinaria Argentina, vol. 28 (n°279), pp. 1-5.
- Meana, A & Rojo, F. 1999. *Tricostrogilidosis y otras nematodosis*. En: Cordero del Campillo, M & Rojo, F. (eds.). *Parasitología Veterinaria*. 1<sup>a</sup> ed. Madrid, McGraw-Hill-Interamericana de España.
- Mehlhorn, D, Düwel, D & Raether, W. (eds.). 1993. *Manual de parasitología veterinaria*. Editorial Grass-Iatros. Bogotá, Colombia.
- Melancon, J. 1999. *Parasites of dairy cattle: Nematodirus infections in cattle*. Meril Veterinary Bulletin. vol. 1, pp. 1-6.
- Morgan, B & Hawkins, P (eds.). 1949. *Veterinary Helminthology*. Burgess Publishing Company. Minneapolis, U.S.A.
- Oberg, C, Díaz, L & Valenzuela, G. 1974. *Parásitos identificados en bovinos, ovinos, suinos y equinos en el laboratorio de Enfermedades Parasitarias de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile*. Boletín Chileno de Parasitología, vol. 29, pp. 99-102.
- Quiroz, H. (ed.). 2005. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Ed. Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. México D.F., México.
- Romero, J & Boero, C. 2002. *Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en las regiones templadas y cálidas de Argentina*. Analecta Veterinaria, vol. 1, pp. 21-37.
- Rose, J. 1975. *The significance of Nematodirus helvetianus eggs which have survived on a pasture throughout the winter in the transmission of infection to calves*. Research in Veterinary Science, vol. 18, pp. 175-177.
- Samizadeh-Yazd A & Todd A. 1979. *Observations on the pathogenic effects of Nematodirus helvetianus in dairy calves*. American Journal of Veterinary Research, vol. 40, pp. 48-75.
- Samuel, W, Pybus, M & Kocan, A. 2001. *Parasitic diseases of wild mammals*. 2<sup>nd</sup> ed. A Blackwell Publishing Company, Iowa State, USA.
- Soulsby, E. (ed.). 1965. *Textbook of veterinary clinical parasitology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. London. Great Britain.
- Soulsby, E. (ed.). 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7<sup>a</sup> ed. Nueva Editorial Interamericana. México D. F. México.
- Tagle, I. 1966. *Parásitos de los animales domésticos en Chile*. Boletín Chileno de Parasitología, vol. 21, pp. 118-121.
- Taylor, M., Coop, R & Wall R (eds.). 2016. *Veterinary Parasitology*. 4<sup>th</sup> Ed. Wiley Blackwell.
- Valenzuela, G, Sievers, G & Quintana, E. 1992. *Parásitos identificados en bovinos, ovinos y equinos en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile*. III<sup>a</sup> Jornadas Anuales de Parasitología, Olmué, Chile, pp 43-45.
- Vignau, M, Venturini, L, Romero, J, Eiras, D & Basso, W (eds.). 2005. *Parasitología práctica y modelos de enfermedades*

*parasitarias en los animales domésticos*. 1<sup>o</sup> ed. Universidad de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Whitlock, H. 1957. *Parásitos internos de los rumiantes*. Cuzzi y Cia. S.A. Arequipa. Perú.

---

Received October 3, 2016.  
Accepted January 16, 2017.