ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Mathilde
Voinot Meissner

Tesis doctoral

Control biológico de infecciones parasitarias mediante hongos en rumiantes autóctonos del País Vasco

Lugo, 2022

Programa de doctorado en Medicina y Sanidad Veterinaria

TESIS DE DOCTORADO

CONTROL BIOLÓGICO DE INFECCIONES PARASITARIAS MEDIANTE HONGOS EN RUMIANTES AUTÓCTONOS DEL PAÍS VASCO

Mathilde Voinot Meissner

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA Y SANIDAD VETERINARIA

LUGO

2022

Declaración de conflicto de interés:

El doctorando declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DE LA AUTORA

Control biológico de infecciones parasitarias mediante hongos en rumiantes autóctonos del País Vasco

Dña. **Mathilde Voinot Meissner**

Presento mi Tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

1) La Tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
2) De ser el caso, en la Tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
3) Confirmo que la Tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En Lugo, 26 de julio del 2022

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DE LA DIRECTORA

Control biológico de infecciones parasitarias mediante hongos en rumiantes autóctonos del País Vasco

Dña. **María Sol Arias Vázquez**

INFORMA:

Que la presente Tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dña Mathilde Voinot Meissner, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como directora de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente Tesis Doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en las que la participación de la doctoranda fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Lugo, 26 de julio del 2022

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DE LA DIRECTORA

Control biológico de infecciones parasitarias mediante hongos en rumiantes autóctonos del País Vasco

Dña. **Rita Sánchez-Andrade Fernández**

INFORMA:

Que la presente Tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dña. Mathilde Voinot Meissner, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como directora de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente Tesis Doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en las que la participación de la doctoranda fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Lugo, 26 de julio del 2022

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DEL TUTOR

Control biológico de infecciones parasitarias mediante hongos en rumiantes autóctonos del País Vasco

D. **Adolfo Paz Silva**

INFORMA:

Que la presente Tesis, se corresponde con el trabajo realizado por Dña. Mathilde Voinot Meissner, bajo mi tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como tutor de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente Tesis Doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de COMPENDIO DE PUBLICACIONES, en las que la participación de la doctoranda fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Lugo, 26 de julio del 2022

Financiación

La actividad ha sido realizada, en parte, con cargo a los siguientes Proyectos de Investigación:

"Investigación orientada al diagnóstico, control y prevención de infecciones parasitarias, en especial zoonosis". RYC-2016-21407 (2018-2021). Ministerio de Economía y Competitividad, España.

"Desenrolo dun biocida sustentable de acción parasiticida no solo" - Modalidade C. Proxectos de excelencia - Consolidación e estruturación. ED431F 2018/03. (2018-2020). Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria, Xunta de Galicia, España.

"Control de parásitos en animales y personas: diagnóstico, prevención y tratamiento - COPAR". ED431B2021/07. (2021 – 2023). Grupos con Potencial de Crecimiento, Consellería de Cultura, Educación e Deporte, Xunta de Galicia, España.

En ausencia de financiación específica para afrontarlos, los gastos derivados de la toma de muestras en Azpeitia (Gipuzkoa) (desplazamientos desde Lugo, pernocta y manutención), fueron asumidos por los IPs del Grupo de Investigación COPAR.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Happiness can be found even in the darknest of times, if one only remembers to turn on the light.

J.K. Rowling

Tu deviens responsable pour toujours de ce que tu as apprivoisé.

Antoine de Saint-Exupéry

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Dedicatoria

A mon grand-père, Jacques.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Agradecimientos

Durante toda la etapa de Tesis he podido evolucionar tanto en lo personal como en lo profesional. El resultado, después de cinco años, es esta Tesis Doctoral, la cual ha sido posible gracias al esfuerzo y el apoyo de numerosas personas a las cuales quiero dedicarles unas palabras de agradecimiento.

En primer lugar, quiero agradecer a la Dra Rita Sánchez-Andrade cuyas clases en segundo de carrera me hicieron "enamorarme" de la Parasitología y la cual me ha apoyado en todo momento. Al Dr Adolfo Paz Silva, gracias por el optimismo, buen humor y miles de anécdotas con las que has acompañado los largos viajes en coche. A la Dra María Sol Arias Vázquez quien desde el TFG me ha enseñado todo lo que sé en el laboratorio y quien ha dedicado su tiempo para formarme, apoyándome en todos los momentos.

A mis compañeros de laboratorio y de Tesis, juntos hemos recorrido un largo camino ayudandonos en los momentos malos y buenos, enseñándonos y sobre todo haciendo mucho más fácil esta experiencia. A María Isabel Silva Torres, gracias por tus consejos y por enseñarme que la unión hace la fuerza. A María Vilá Pena, por se la mejor compañera de estancias, gracias por tu apoyo todo estos años y a Cándido Viña Pombo el mejor compañero de viaje, una parte de esta Tesis es gracias a tu colaboración.

Agradecer a los catedráticos del Departamento. Pablo Díez Baños,. Patrocinio Morrondo Pelayo y Rosario Panadero, a los profesores Ceferino López, Pablo Díaz y Susana Remesar. Además agradecer a mis compañeros Antonio Palomero y José Ángel Hernández Malagón, Cristiana Cazapal-Monteiro y David García Dios.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Durante toda la carrera y doctorado he estado rodeada de amigos que se han convertido en mi familia, Raúl, Leti, Nuria, Ian y Tamara. Hemos estado juntos desde primero y una década después aquí seguís. Quiero agradecer especialmente a tres de mis mejores amigas. Raquel elegiste ser mi amiga en 3er ESO y desde entonces siempre has estado a mi lado a pesar de la distancia. A Alessandra a quien conocí en Italia, fuiste como una hermana mayor ayudándome siempre que lo he necesitado. A Sandra mi mejor amiga, el mayor apoyo a lo largo de estos diez años, gracias a ti he podido lograr tantas cosas que nunca habrá suficientes palabras de agradecimiento.

A toute ma famille de France, mes oncles et tantes (Gabrielle, Claire et François, Jean-Baptiste et Séverine, Vincent et Valerie), mes cousins (Valère, Lucile, Camille, Alice, Elise, Leonie, Auguste, Perrine, Félix, Romane, et Basile) mais especialement a mes grands-parends Jacques et Marie-Alice, les meilleurs grands-parents que j'ai eu. A mon père Denis pour ton soutien dans tout les bons et mauvais moments et pour tout ce que tu a fais pour moi. A Corinne qui a toujours eu le meilleurs conseilles, tu est l'exemple a suivre comme femme. A mes frères et soeurs Jeanne être toujours la pour m'écouter et m'aider et à Sarah et Remi pour votre soutien. Merci à toutes les personnes qui on fait mon chemin en France plus facile et surtout a Ghislaine et Mathilde.

A mi madre, Monika gracias a ella soy veterinaria y fue quien me animó a aventurarme en esta maravillosa etapa que ha sido el Doctorado. A mi hermano mayor Pablo por estar siempre ahí.

A mi otra "familia" de Palas que me acogió en sus brazos sin pensarlo y en especial a Mila por ser como una madre para mi, gracias. Por último, Beni gracias por haberte cruzado en mi camino, eres mi mejor amigo, mi compañero de viaje y el mayor apoyo que tengo.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN 17
1.1 Ganadería ecológica 17
1.1.1 Importancia económica de la ganadería ecológica 19
1.1.2. Ventajas de la ganadería ecológica 21
1.1.3 Inconvenientes de la ganadería ecológica 22
1.2 Helmintos más frecuentes en herbívoros en pastoreo 23
1.2.1 Importancia económica y sanitaria de las helmintosis. 36
1.3 Integración del control de helmintosis en herbívoros 41
1.3.1 Acción sobre el hospedador definitivo 41
1.3.2 Acción sobre el medio 54
2. UNIDAD TEMÁTICA 73
3. OBJETIVOS 77
4. METODOLOGÍA GENERAL 79
5. PUBLICACIONES 93
5.1 Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi. 94
5.2 Safety of daily administration of pellets containing parasiticidal fungal spores over a long period of time in heifers. 95
5.3 Control of strongyles in first-season grazing ewe lambs by integrating deworming and thrice-weekly administration of parasiticidal fungal spores. 96
6. DISCUSIÓN 97
7. CONCLUSIONES 111
8. RESUMEN / RESUMO / SUMMARY / RESUME 113
9. BIBLIOGRAFÍA 127
10. ANEXOS 195

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AH: Antihelmíntico

COWPs: Partículas de cobre

CPCR: Reducción del número de animales positivos

EHA: Ensayo de eclosión de huevos

ERP: Período de reaparición de huevos

FECRT: Reducción del recuento de huevos en heces

ha: Hectáreas

HD: Hospedador definitivo

HI: Hospedador intermediario

hpg: Huevos por gramos de heces

HR: Humedad relativa

L1: larva de estadio uno

L2: larva de estadio dos

L3: larva de estadio tres

L4: larva de estadio cuatro

L5: larva de estadio cinco

LDA: Ensayo de desarrollo larvario

NGI: Nematodos gastrointestinales

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PCR-RFLP: Técnica del poliformismo de largo fragmento

p.v: Peso vivo

RA: Resistencias antihelmíntica

SC: Subcutáneo

TC: Taninos condesados

VO: Vía oral

VP: Vía parenteral

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GANADERÍA ECOLÓGICA

La agricultura ecológica (también conocida como *orgánica* o *biológica*) se define como un sistema de gestión y producción agroalimentario en el cual se utilizan las mejores prácticas ambientales, un elevado nivel de biodiversidad y la preservación de los recursos naturales (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, MAPA, 2018).

En 1991 entró en vigor el primer reglamento de la Comunidad Económica Europea 2092/91, introduciéndose modificaciones a lo largo de los años hasta que en 2007 se aprobó el reglamento de la Comunidad Europea Nº 843/2007, que permaneció vigente hasta 2020. A partir del 1 de enero de 2021 se aplica el reglamento de la Unión Europea 2018/848 por el cual se regula la normativa sobre la producción ecológica y el etiquetado de los productos ecológicos (MAPA, 2018). En España, cada comunidad autónoma tiene sus propios Comités de Agricultura Ecológica (públicos o privados) cuya función es el control de la certificación de la producción agraria ecológica.

La agricultura ecológica engloba también la producción animal. La ganadería ecológica es un sistema de producción cuyos objetivos son garantizar la salud del consumidor, el bienestar de los animales y la protección del medio ambiente (García-Romero y Mata, 2005). Los principios en los que se basa este tipo de ganadería son (Fig. 1):

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

I. Conservación del medio: evitando contaminar y manteniendo la fertilidad del suelo de forma natural, junto a su biodiversidad. Se hará un uso racional de los recursos por los animales autóctonos respetando una carga ganadera adecuada para eludir cualquier tipo de impacto negativo sobre el medio.

II. Bienestar y protección de los animales: mediante un adecuado desarrollo vital en unas condiciones aptas para ello y evitando cualquier tipo de daño y molestias innecesarias a lo largo de toda su vida lo cual incluye su manejo, el transporte y la insensibilización previa al sacrificio.

III. Evitar el empleo sistemático de sustancias químicas sintéticas en todo el proceso productivo: incluye medicamentos administrados a los animales y fertilizantes o aditivos empleados para obtener o preparar los alimentos que el ganado consume. Se debe garantizar de forma segura la ausencia de residuos en los productos de origen animal que puedan poner en peligro la salud del consumidor, procurando que la salud de los animales se mantenga en base a la prevención (García-Romero y Mata, 2005).



Fig. 1. Principios de la ganadería ecológica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.1.1 Importancia económica de la ganadería ecológica

En el año 2017 este sector aportó unas ganancias de 34 billones de euros convirtiendo a la Unión Europea (UE) en el segundo mayor consumidor de comida orgánica del mundo. La elevada demanda de productos orgánicos se ha podido ver reflejada en el incremento en un 70 % del área orgánica en los diez últimos años hasta un total de 12,6 millones de hectáreas (ha) en 2017. Esto representa un 18 % del total de área orgánica global y un 7 % del área total agrícola de la UE. En 2017, los países europeos con mayor superficie de tierra orgánica eran España (21 %), Italia (18 %), Francia (17 %) y Alemania (12 %). Sin embargo, en 2019, Austria, Estonia y Suecia fueron los países con mayor participación en la producción ecológica (Oficina Europea de Estadística, EUROSTAT, 2019). En la misma línea que la superficie orgánica, el crecimiento de explotaciones en ecológico en un período de tres años (2013-2016) fue del 9 % (EUROSTAT, 2019). A pesar de ello, si se contrastan los datos con la ganadería convencional siguen estando muy por detrás siendo solo del 3 % en 2017. En cuanto a las especies ganaderas, en este tipo de sistema, el ganado ovino y caprino se encuentra en primera posición (6 %) seguido del vacuno (5 %). A pesar de que otras especies como cerdos y aves conforman un porcentaje mucho menor en ecológico, el crecimiento entre 2012 hasta el 2017 ha sido notablemente mayor (10 % aves, 6 % cerdos, 5 % vacuno y un 3 % ovino y caprino) (EUROSTAT, 2019). Los sistemas de pastoreo en extensivo de estas especies pueden convertirse más fácilmente en sistemas en ecológico, debido a su manejo sencillo y bajo coste. Por el contrario, los sistemas intensivos tienen mayor dificultad a la hora de realizar está conversión debido al aumento de los costes de la alimentación orgánica y la normativa más estricta (restricciones en la medicación).

Coincidiendo con los datos mencionados anteriormente, la evolución del sector ecológico en España se ha producido de forma exponencial desde 1991. La superficie orgánica ha sufrido el mismo crecimiento prácticamente todos los años, pasando de las 4.235 ha en 1991 a las 2.246.475 ha en 2018. La ganadería ecológica también ha ido creciendo en España, existiendo un total de 7.553 explotaciones en 2018. El mayor número de explotaciones ganaderas en ecológico se

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

encuentran en la Comunidad Autónoma (CA) de Andalucía (61,35 %) desmarcándose de forma notable de las demás comunidades (Fig. 2) (MAPA, 2018).

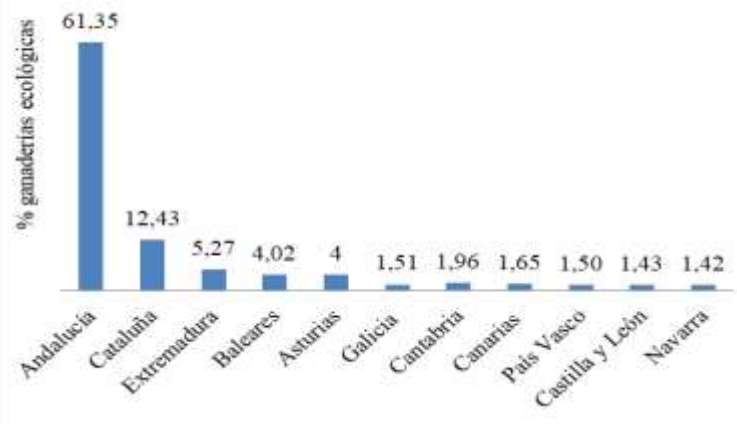


Fig. 2 Porcentaje de ganaderías ecológicas por Comunidad Autónoma.

Los datos aportados sobre la orientación productiva nos indican que las especies principales a las que está dirigida son la bovina (47,49 %), ovina (26,92 %), caprina (9,07 %) y por último equina (5,25 %). Es importante destacar que en todos los casos la producción cárnica es mayoritaria a la láctea, (Fig. 3), (MAPA, 2018).

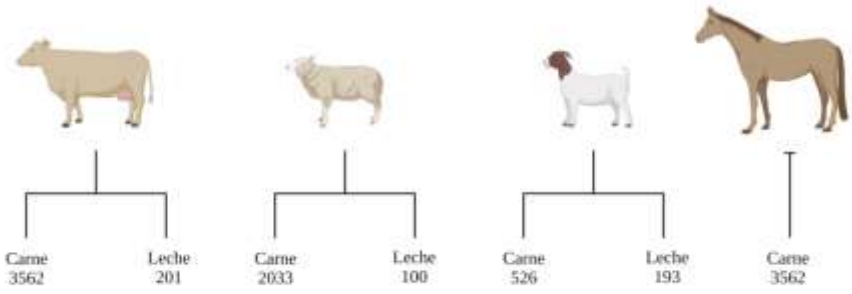


Fig. 3. Número de explotaciones ecológicas según su orientación productiva y especie animal.

1.1.2. Ventajas de la ganadería ecológica

Son muchos los estudios que muestran las ventajas de la producción en ecológico. La estricta normativa que regula el uso de químicos resulta beneficiosa para el medio (Tuomisto *et al.,* 2012). Este sistema de gestión del territorio supone una reducción significativa de los *inputs* y de las necesidades energéticas, lo cual contribuye a la disminución de los gases inductores del efecto invernadero rebajando los niveles de metano y CO_2 (Kotschi & Muller-Samman, 2004, García-Romero, 2017). Numerosas investigaciones señalan la reducción de los gases con efecto invernadero con sistemas ecológicos (Mondelaers *et al.*, 2009; Clark & Tilman, 2017).

Otro de los beneficios es el importante control que ejerce sobre la biomasa, disminuyendo las necesidades de limpieza y desbroce de las zonas forestales sin afectar a su regeneración, lo que previene el gran problema de los incendios forestales (García-Romero, 2019). Las especies de ganado equino y caprino son más bien lignívoras, y por ello las que más contribuyen a esta labor, mientras que las de ovino y bovino son más bien herbívoras, y a pesar de tener un papel secundario, resultan muy útiles para mantener pastizales y zonas anteriormente pastadas por lignívoros (González, 2004).

La trashumancia que forma parte de la ganadería ecológica permite la unión de los ecosistemas ibéricos a través de la red de vías pecuarias evitando el aislamiento de los espacios protegidos y favoreciendo la dispersión y el intercambio genético entre distintas especies (González, 2004). Asimismo, contribuye a crear y mantener los pastos originando una diversidad de hábitats en los que viven herbívoros silvestres y también sus depredadores. En los humedales limita el crecimiento excesivo de vegetación facilitando la aparición de aguas con vegetación flotante y sumergida que es empleada como alimento y refugio por peces, invertebrados y aves acuáticas, que a su vez permite conservar la riqueza de la fauna y flora de los parques nacionales y reservas naturales. Además, es importante destacar el efecto positivo sobre la fauna invertebrada, en especial los coleópteros, amenazada en ocasiones por la ivermectina (García-Romero, 2009).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Desde hace tiempo, en España y en otros países se ha prestado especial atención a la conservación de razas autóctonas que constituyen una valiosa reserva genética. Su elevada rusticidad les proporciona una mejor adaptación al entorno y mayor resistencia a las nuevas situaciones epidemiológicas generadas por el cambio climático, de manera que resultan muy adecuadas en ganadería ecológica (González, 2004). A los cambios en el clima se asocian variaciones en el desarrollo y supervivencia estacional de los parásitos, que están presentes durante más tiempo en los pastos, que implica mayor riesgo de infección de los hospedadores durante el pastoreo. La ganadería ecológica aporta mejores niveles de salud y bienestar a los animales sin necesidad de recurrir a tratamientos químicos de forma reiterada, como ocurre en muchas de las explotaciones convencionales (García-Romero, 2017).

1.1.3 Inconvenientes de la ganadería ecológica

A pesar de que son muchos los estudios que afirman que los gases de efecto invernadero disminuyen, en un estudio realizado por Kathage (2018), se pusieron en entredicho los resultados aportados previamente al considerar que la metodología empleada impedía obtener conclusiones sobre el impacto que la expansión de la agricultura orgánica pueda tener sobre las emisiones de dichos gases. Señaló este autor que en numerosos trabajos sobre sistemas tradicionales y orgánicos no se contabilizaban de forma adecuada las emisiones de niveles de nitrógeno, impidiendo realizar una comparación precisa.

Aunque la huella de carbono no resulta un indicador real de los beneficios del sistema ecológico en el medio ambiente, resulta fundamental para diferenciarlo de otros sistemas que aun siendo extensivos, no son sostenibles debido a un manejo intensificado y al uso de sustancias químicas contaminantes (García-Romero, 2019). Los datos de producción, en comparación con los sistemas convencionales, son más bajos (Ponisio *et al.,* 2015), y las explotaciones necesitan mayor superficie para obtener beneficios. Al comparar el estado sanitario de los animales en ambos modelos no se encuentran diferencias. Es importante destacar que los productos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ecológicos tienen dos grandes inconvenientes para el consumidor: por proceder de un sistema menos eficiente resultan más caros y tienen un periodo de conservación más corto, debido a la ausencia de productos químicos (Eguinoa *et al*., 2012). Para intentar solventar estos inconvenientes surgió la producción integrada que combina agricultura ecológica y tradicional (MAPA, 2018) que se viene empleando como alternativa hasta poder conseguir una producción ecológica verdaderamente funcional.

1.2 HELMINTOS MÁS FRECUENTES EN HERBÍVOROS EN PASTOREO

En los animales mantenidos según el sistema de producción agroalimentario ecológico prima el pastoreo (alimentación a diente) que aumenta el riesgo de padecer infecciones parasitarias causadas por la ingestión de formas infectantes presentes en el pasto. Los parásitos más frecuentes son los nematodos gastrointestinales, los trematodos y los nematodos broncopulmonares.

- **Nematodos gastrointestinales**

Las gastroenteritis parasitarias en rumiantes están causadas por distintas familias de nematodos (Fig. 4). : Trichuridae y Capillariidae que engloban los tricúridos y Strongyloididae, Chabertiidae, Ancylostomatidae, Trichostrongylidae y Ascarididae que incluyen a los denominados estrongílidos. Las infecciones suelen ser mixtas, participando varias especies de distintos géneros (Meana-Mañes y Rojo Vázquez, 1999). Las especies de la familia Trichostrongylidae son las de mayor prevalencia mundial y ocasionan importantes pérdidas asociadas a la enfermedad que provocan algunos géneros (Deplazes *et al*., 2016).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

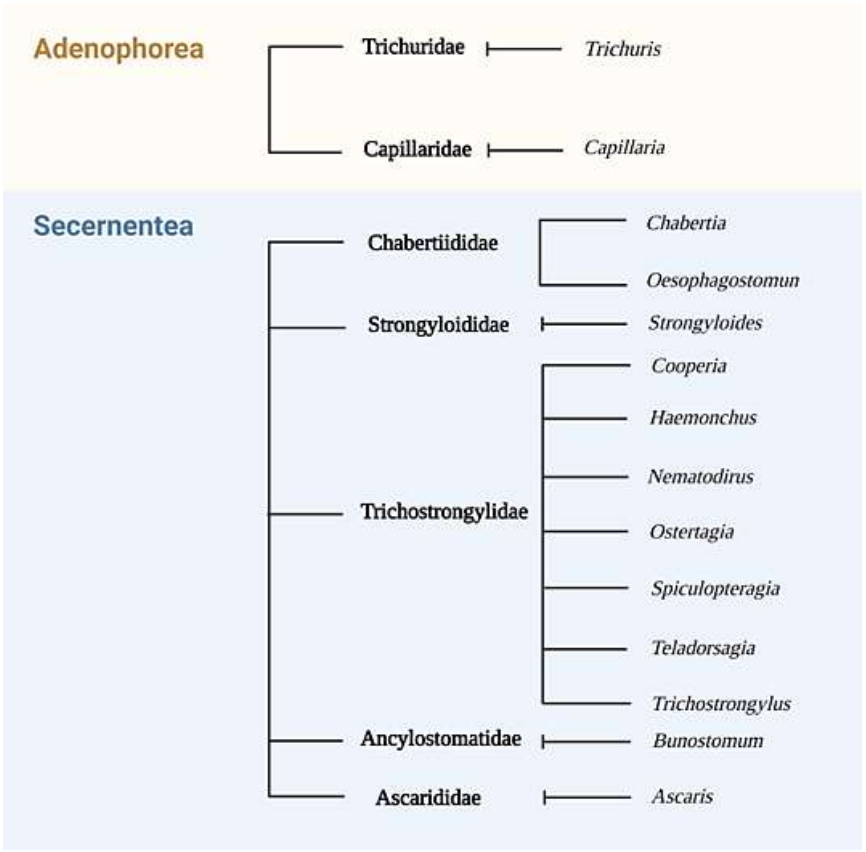


Fig. 4. Clasificación taxonómica de los nematodos gastrointestinales.

El ciclo biológico es directo, la fase exógena se desarrolla en el medio y la fase endógena tiene lugar en el interior del hospedador definitivo (HD) (Fig. 5). La fase exógena del ciclo comienza con la eliminación de los huevos en las heces del hospedador. Es importante destacar que morfológicamente los huevos de los nematodos gastrointestinales de los rumiantes son prácticamente indiferenciables, a excepción de los de los ascáridos, *Trichuris* spp., *Capillaria* spp. y *Nematodirus* spp. (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2000).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

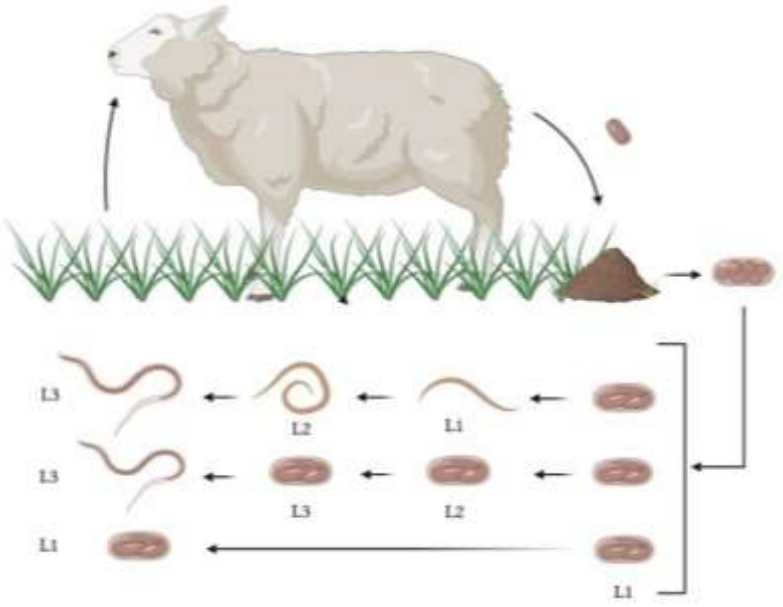


Fig. 5. Fase externa del ciclo de los nematodos gastrointestinales.

Cuando los huevos se encuentran en el medio embrionan formándose la larva de primer estadio (L1) que tras la eclosión del huevo sale al exterior. A continuación, se produce la muda de la L1 al segundo estadio (L2), ambos obtienen nutrientes de la materia orgánica que se encuentra en las heces. Finalmente se produce la última muda al tercer estadio (L3) en el exterior resultando infectante para el hospedador. La principal diferencia morfológica entre las dos primeras fases larvarias y la tercera es la doble vaina que envuelve esta última y que le impide alimentarse pero que le aporta protección frente a la desecación en el medio externo (Stromberg, 1997). En la fase exógena existen excepciones según el género, en el caso de *Nematodirus* spp. tanto la L1 como la L2 evolucionan dentro del huevo y solo sale al exterior la L3 (forma infectante). En el caso de los ascáridos, *Trichuris* spp. y *Capillaria* spp., los huevos no eclosionan y albergan en su interior la larva infectante.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Una vez que se produce la ingestión de las fases infectantes, se inicia la fase endógena del ciclo biológico (Fig. 6). Las larvas sufren una serie de mudas hasta convertirse en machos y hembras sexualmente maduros.

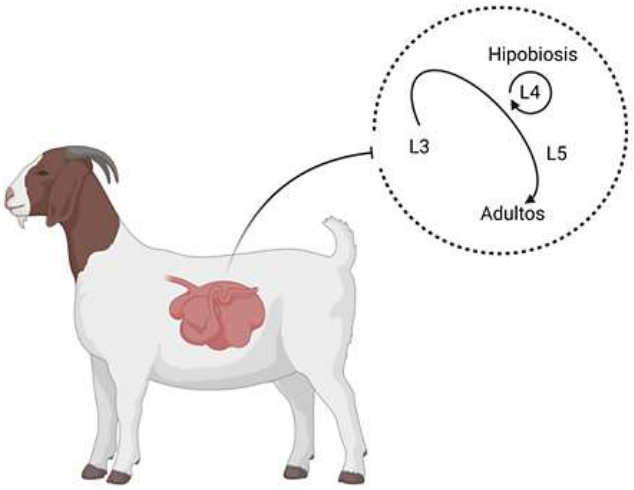


Fig. 6. Fase endógena de los nematodos gastrointestinales.

La localización final del nematodo varía en función del género (Fig. 7). Si las condiciones climáticas son desfavorables, en el caso de los estrongílidos, se puede producir un fenómeno denominado "hipobiosis larvaria o "estado de latencia" por el cual las larvas penetran en la submucosa del intestino y permanecen allí hasta que las condiciones vuelven a ser favorables y puedan alcanzar el estado adulto (Deplazes *et al*., 2016). Tras la cópula, las hembras eliminan huevos que salen al exterior mezclados con las heces. En el caso de *Trichuris* spp. y *Capillaria* spp. el hospedador definitivo ingiere los huevos con las L1 en su interior, los huevos eclosionan y evolucionan a los siguientes estadios larvarios hasta convertirse en adultos. Las larvas de los ascáridos realizan una migración por distintos órganos del hospedador hasta volver al intestino para transformarse en adultos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

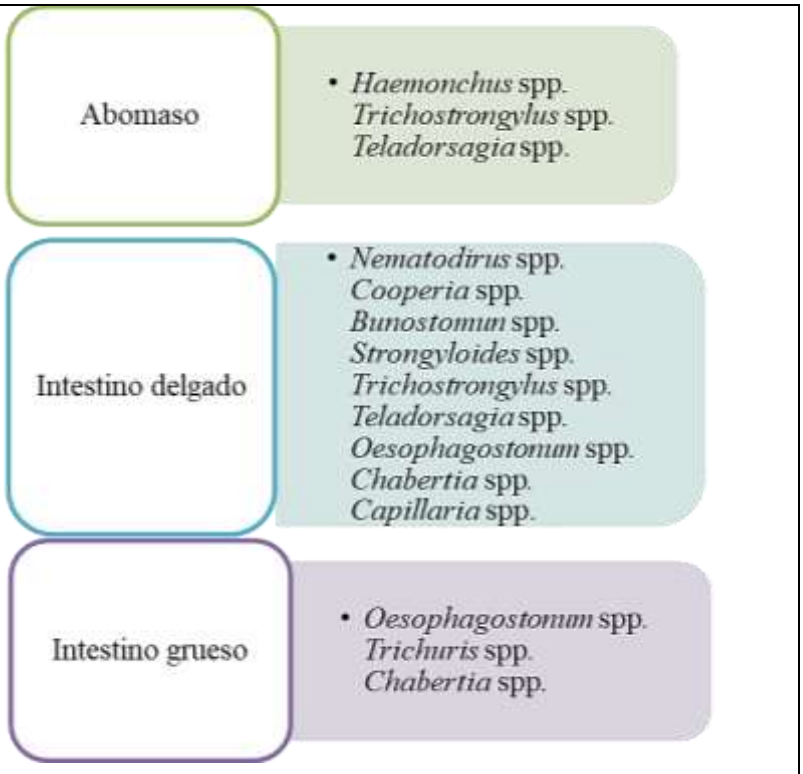


Fig. 7. Localización de las L3 de nematodos gastrointestinales en el HD.

El desarrollo de las fases de vida libre de los nematodos gastrointestinales depende principalmente de dos factores ambientales: la temperatura (Tª) y la humedad relativa (HR), a pesar de que se tienen más datos sobre el efecto de la temperatura, ambos parámetros ejercen gran influencia (Pedreira, 2006; Cienfuegos *et al*., 2009). Así mismo la lluvia, la radiación solar, la altitud, el viento, los pájaros, los insectos, los hongos y los animales silvestres pueden influir en el desarrollo, propagación o supervivencia de estos nematodos, pero de forma menos relevante (Stromberg, 1997).

Existe una variación considerable del efecto de estos factores sobre las diferentes especies de parásitos y las fases de vida libre debido a que las características morfológicas de huevos y larvas son

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

distintas. Levine (1963) y O'Connor *et al.* (2006) diferenciaban dos fases de desarrollo, de huevo a estadio infectante y la migración junto a la supervivencia en el medio, destacando los efectos del clima sobre cada fase. Para O'Connor *et al.* (2006) resulta muy difícil evaluar los estudios publicados sobre el efecto de la temperatura porque los periodos de tiempo y temperaturas son diferentes en cada caso. Además, es importante mencionar el efecto del cambio climático en la supervivencia de los nematodos gastrointestinales. Van Dijk (2008) concluyó que el incremento de la Tª en los últimos diez años en Gran Bretaña había coincidido con un aumento de la población de *Haemonchus* spp. y *Nematodirus* spp. en ovejas.

El **rango térmico** en el cual las larvas y los huevos se desarrollan en el medio externo está comprendido entre los 5ºC y los 37.5ºC. A pesar de esta amplitud existe una temperatura óptima de desarrollo que permite que de un número de huevos se desarrollen el máximo número de larvas (Morgan *et al*., 2012). La temperatura óptima varía según las especies, en el caso de *Haemonchus* spp. está comprendida entre 25-37ºC y en el caso de *Teladorsagia* spp. se sitúa entre los 16-30ºC (O'Connor *et al*., 2006). Aunque los estudios demuestran que al aumentar la temperatura generalmente se necesitan menos días para que las fases libres se desarrollen, a partir de los 26-27ºC se reduce el desarrollo y aumenta la mortalidad (Rose & Small, 1984).

Las bajas temperaturas afectan de forma distinta a huevos y larvas, Todd *et al.* (1976) observaron que los huevos no embrionados eran los más susceptibles seguidos de las L2, L1, huevos embrionados y finalmente las L3. La baja resistencia de las fases pre-infectantes tiene una gran importancia epidemiológica ya que provoca una disminución en la contaminación parasitaria del pasto. Generalmente por debajo de los 9ºC el desarrollo se detiene y se incrementa la mortalidad, aunque existen excepciones como las larvas de *Ostertagia* spp., capaces de eclosionar a 5ºC, pudiendo mantenerse viables durante 42 días (Levine, 1980). En el caso de *Haemonchus* spp., cuya temperatura óptima es superior a los 18,3ºC, no puede seguir evolucionando con temperaturas inferiores a los 12ºC (Alunda y Reguera, 1985).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La **humedad** es un factor vital para la supervivencia y el desarrollo de las fases libres. Según O'Connor *et al.* (2006) en la mayoría de los estudios se ha tenido poco en cuenta este factor debido a que está influenciado por parámetros como las condiciones del suelo de los pastos, la evaporación, la temperatura, la nubosidad y el viento difíciles de controlar. Los valores óptimos están comprendidos entre 76-100% HR, aunque la mayoría de las larvas requieren un mínimo de un 96% para desarrollarse (Cordero del Campillo y Rojo, 2000). Tanto la humedad interna como externa de las heces influyen en la supervivencia (van Dijk & Morgan, 2011). Las L3 de *Ostertagia* spp., *Haemonchus* spp. y *Cooperia* spp. no salen de las heces si las heces están secas (Silva *et al*., 2008).

Es difícil analizar de forma experimental el efecto de las **precipitaciones**, por lo que en Europa los datos son escasos y no aportan información suficiente (Marley *et al*., 2006). La importancia de la lluvia reside en que permite la migración larvaria por lo que es necesario incorporar su efecto en las dinámicas larvarias para poder elaborar predicciones epidemiológicas (van Dijk & Morgan, 2011). La migración larvaria se produce cuando existe una fina película de agua que permite su salida de las heces, por ello, las primeras horas de la mañana y las últimas de la tarde son las más favorables (Meana-Mañes y Rojo Vázquez, 1999). Epidemiológicamente, en regiones áridas, la falta de lluvia ha limitado el desarrollo, migración y posterior supervivencia larvaria en la hierba. En épocas del año en las que la desecación es menos severa, el rocío es suficiente para que se produzca la salida de las larvas gradualmente (van Dijk & Morgan, 2011).

La migración debido al efecto del agua varía entre especies (O'Connor *et al*., 2006). La localización en la que se completa el desarrollo de las larvas es un factor determinante, por ejemplo, el estiércol en el caso de los estrongílidos o el suelo en *Nematodirus* spp. (van Dijk y Morgan, 2011). Niven *et al.* (2002) compararon la influencia de la lluvia en la abundancia de distintas especies de larvas en los pastos demostrando una fuerte correlación entre las precipitaciones y la abundancia de *Teladorsagia* spp. mientras que no

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

afectó a la presencia de L3 de *Nematodirus* spp. El desarrollo de *Haemonchus* spp. se produce en un clima seco y caluroso necesita lluvia o rocío abundante para poder migrar a la hierba. Como consecuencia, se produce una liberación masiva de larvas, provocando problemas como la haemoncosis clínica en verano que se suele producir cuando llueve después de una sequía. Es importante destacar que a medida que se produce dicha migración aumenta la exposición tanto a la HR como a la radiación ultravioleta (UV), por lo que, aunque es beneficiosa, también puede resultar perjudicial (van Dijk, 2008). Por el contrario, van Dijk y Morgan (2011), afirman que son las precipitaciones las que provocan la liberación de las larvas de las heces y su propagación. La intensidad de las precipitaciones influye, si son débiles las larvas abandonan las heces, pero si son fuertes, se va a producir su arrastre (Skinner & Todd, 1980).

El efecto provocado por la **radiación UV** debe ser tenido en cuenta a la hora de valorar los efectos del clima. Varios autores como Marquardt *et al.* (1959) o Tromba (1978) señalaron que la temperatura y la humedad no podían ser los únicos factores a tener en cuenta. La exposición al sol provoca un incremento de la mortalidad, aunque al igual que con otros factores climáticos, existen diferencias entre las especies ya que muestran un grado variable de absorción de luz UV (Tromba, 1978; van Dijk *et al*., 2009). Van Dijk (2008) demostró que la radiación UV que emite el sol de forma normal aumentaba la tasa de mortalidad de los nematodos gastrointestinales. Además, observó que se producía una cierta regeneración en algunas larvas después de una exposición subletal, pero esta supone un coste de energía importante dado que las reservas son limitadas en las L3 al no alimentarse.

- **Trematodos**
    - *Fasciola* spp.

La fasciolosis es una de las parasitosis más difundidas e importantes de los rumiantes domésticos, aunque también puede afectar a équidos, suidos, largomorfos, roedores e incluso al hombre ya que todos ellos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

son hospedadores definitivos. Está causada por todas las especies del género *Fasciola* siendo *Fasciola hepatica* la de mayor prevalencia en España (Rojo y Ferre, 1999).

El ciclo es heteroxeno, los adultos viven en los conductos biliares de los HD eliminando entre 2.000-5.000 huevos por día que llegan al intestino con la bilis y al exterior con las heces. En un ambiente acuoso y con temperatura adecuada los huevos evolucionan hasta la fase de miracidio. Los miracidios buscan al hospedador intermediario (HI), un caracol anfibio que pertenece a la familia *Lymnaea*. En su interior pierden sus cilios y se transforman en esporocistos que migran hasta las glándulas digestivas se convierten en redias y finalmente en cercarias. El número de cercarias eliminado puede variar entre 10-4.000 y en el exterior se enquistan sobre hierbas y plantas acuáticas, se rodean de una cubierta resistente transformándose en metacercarias, fase infectante para el HD. Una vez ingeridas atraviesan la pared intestinal, la cavidad peritoneal y alcanzan el hígado. Durante 2 meses aproximadamente migran por el parénquima hepático asentándose en los conductos biliares donde alcanzan la madurez sexual. En ovejas los primeros huevos aparecen en las heces a partir de los 55 días desde la ingestión de las metacercarias (Rojo y Ferre, 1999).

En el ciclo de *Fasciola* spp. los factores climáticos influyen sobre la aparición y supervivencia del HI y el desarrollo, viabilidad de los huevos, cercarías y metacercarias. La presencia de *F. hepatica* depende de la presencia de los caracoles que actúan como HI y cuya aparición se ve influenciada por diversos factores:

- Temperatura y humedad: la reproducción de los caracoles se produce a partir de los 10°C y cesa por debajo de los 5°C, aunque la temperatura ideal para una multiplicación significativa es a partir de los 15°C, siendo 26-28°C la temperatura optima máxima (Ibarra *et al*., 2011). El porcentaje de humedad óptimo se sitúa en torno al 70-100% (Martínez-Valladares *et al*., 2013a).
- Agua: si bien las precipitaciones influyen es esencial que haya zonas de agua como son riachuelos de corriente lenta, zanjas, canales con una oxigenación adecuada y sin putrefacción

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

que permiten la aparición y supervivencia del caracol (Paz-Silva *et al*., 2003; Arias *et al*., 2011a). Bennema *et al*. (2011) afirman que las lluvias fuertes perjudican a los caracoles.

- Luz: su presencia es fundamental para el crecimiento de microalgas cianofíceas y clorofíceas que forman parte de la alimentación de estos moluscos (Morales y Pino de Morales, 2004).
- Condiciones edáficas: principalmente suelos que retengan la humedad de textura arcillosa y con una composición química alta en calcio necesaria para la formación de la concha (Rojo y Ferre, 1999).

Los huevos, cercarias y metacercarias se ven influenciados fundamentalmente por:

- Temperatura y humedad: en el caso de los huevos los límites térmicos oscilan entre los 10-30°C. Es necesario que una fina película de agua recubra el huevo (humedad del 70-100%). Las metacercariasson muy sensibles a altas temperaturas y a la desecación, pero muy resistentes a las bajas temperaturas. Además, su capacidad infectante dependerá de las condiciones durante el enquistamiento y de la temperatura durante su desarrollo en el molusco (Rojo y Ferre, 1999).
- Precipitaciones: si bien la presencia de humedad es importante, las precipitaciones intensas perjudican al ciclo ya que los huevos pueden ser esparcidos lejos de los HI. Las áreas con pluviosidad moderada y suficiente humedad permiten un buen desarrollo del ciclo (Torgenson & Claxton, 1998). Se ha estudiado la influencia de la altitud en la epidemiología de *F. hepatica*. Arias *et al*. (2004) en vacas de raza Rubia Gallega en la provincia de Lugo (NO de España) observaron que la mayor seroprevalencia (27,7%) correspondía a los animales que pastaban en zonas entre 500 y 700 msnm. Así mismo, Morrondo *et al*. (2005) en otro estudio de seroprevalencia concluyeron que la exposición a *F. hepatica* en ganado vacuno en pastoreo en diferentes localidades de Galicia era mayor en las zonas de altitud media.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Paranfistómidos

La enfermedad causada se denomina anfistomosis o paranfistomosis. Los trematodos que la provocan pertenecen a los géneros *Paramphistomum*, *Explanatum*, *Cotylophoron* y *Calicophoron*. Afecta principalmente a rumiantes como vacas y búfalos seguido de ovejas, cabras y cérvidos y con menor frecuencia a camélidos y jirafas (Muro y Ramajo, 2000).

El ciclo biológico es indirecto, los adultos que se localizan en el rumen y retículo depositan huevos sin embrionar que son excretados con las heces. En un ambiente acuoso y con temperaturas adecuadas se completa la formación del miracidio que penetra en la cavidad respiratoria de los HI, caracoles pertenecientes a las familias Planorbidae, Bulinidae y Lymnaeidae, para completar las fases de esporocisto, redia y cercaria, que abandona el caracol y se convierte en metacercaria (forma infectiante) en el ambiente. Las metacercarias ingeridas por el HD se desenquistan en el duodeno donde las fases juveniles se fijan y se alimentan durante seis semanas antes de desplazarse hasta los preestómagos para alcanzar la madurez sexual (Torrel-Pajares y Paz-Silva, 2015).

Depende en gran parte de las precipitaciones, la humedad y las temperaturas que permitan la multiplicación de los HI. Díaz *et al*. (2007b) comprobaron mediante coprología que el mayor número de animales infectados estaba en zonas con temperaturas medias superiores a los 11°C y precipitaciones por debajo de los 1.000 mm. La temperatura influye tanto en la actividad de los HI como en la cantidad de cercarías que son liberadas al medio por los HI (Arias *et al*., 2006)

- *Dicrocoelium* spp.

Las dicroceliosis está causada por especies del género *Dicrocoelium*, y en España prevalece *D. dendriticum*. Los HD generalmente son los

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

rumiantes (ganado ovino, caprino y bovino) pero pueden ser otros como ciervo, alce, muflón, oso o jabalí.

En el HD los adultos que viven en conductos y vesícula biliares eliminan huevos embrionados que pasan al intestino a través del colédoco y salen al exterior con las heces (Fig. 8). Los huevos son ingeridos por los HI, caracoles terrestres, como *Cernuella (Xeromagna) cespitumarigonis*, especie más importante epidemiológicamente en España. En el tubo digestivo del HI se produce la eclosión del huevo y la liberación del miracidio que migra hasta asentarse en el hepatopáncreas, allí los miracidios se transforman en esporocistos cuyas masas germinales dan lugar a cercarias en un periodo de 3 a 6 meses dependiendo de la especie de molusco y de la temperatura. Las cercarias abandonan el caracol por el orificio respiratorio y quedan cubiertas con *mucus* formando esferas que contienen entre 300 a 700 cercarias. Mediante los desplazamientos del caracol las bolas de *mucus* son expulsadas hasta depositarse en las plantas (Manga-Gónzalez *et al.*, 2001).

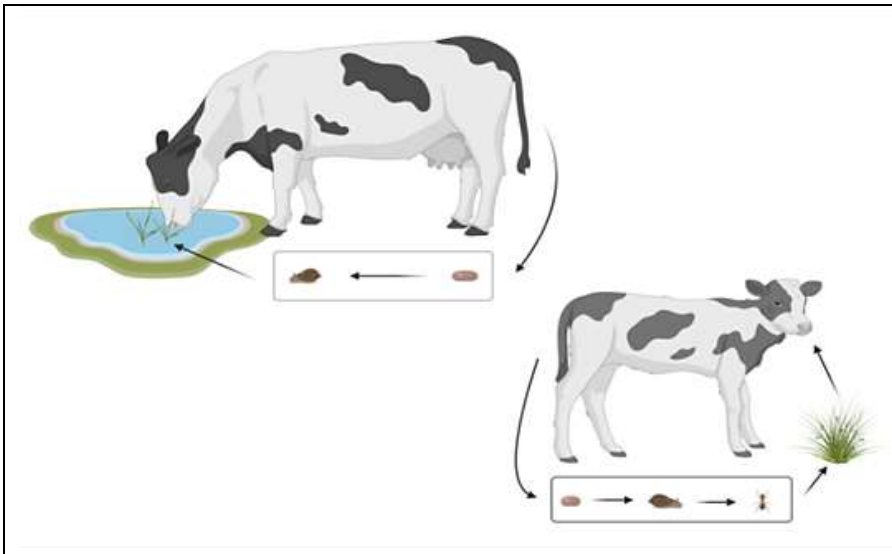


Fig. 8. Fase externa del ciclo biológico de *Fasciola* spp. y *Dricrocoelium* spp.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Cuando las hormigas (segundos HI) ingieren las bolas de mucus, las cercarias atraviesan el buche y se transforman en metacercarias. Al descender la Tª, la metacercaria alojada en el ganglio subesófagico altera el comportamiento de la hormiga provocándole parálisis, de manera que queda fijada a la hierba, lo que favorece su ingestión por HD, en los que las metacercarias se desplazan desde el intestino al hígado a través del colédoco, y a veces por la vía portal, situándose en los conductos biliares donde se transforman en adultos, que eliminan huevos a los 55 días de media post-infección (Rojo *et al*., 2003).

La presencia de los HI y el desarrollo y la supervivencia de los huevos están condicionados por la temperatura, la humedad y los factores edáficos (Manga-Gónzalez *et al.*, 2001). La composición del suelo tiene una gran importancia ya que limita la presencia de los HI, que prefieren terrenos calizos y alcalinos, soleados y con poca pendiente. Aunque se ha demostrado la presencia de *D. dendriticum* en terrenos a baja y alta altitud, en estudios realizados por Díaz *et al*. (2007b) y Morrondo *et al*. (2007) se comprobó que los factores de riesgo eran la pendiente superior a 25% y la altitud por encima de los 600 msnm. Los periodos con mayor actividad de las hormigas son primavera, verano y parte de otoño, durante los cuales hay mayor riesgo de infección de los HD (Quiroz, 2011).

Los huevos de este trematodo son muy resistentes a las condiciones ambientales por lo que persisten en los pastos durante mucho tiempo. A lo largo del año, el 75-85% permanecen viables salvo los meses de julio y agosto en el que la mortalidad es de casi el 100% (Otranto & Traversa, 2002). En las zonas con bajas temperaturas y altas precipitaciones la seroprevalencia del ganado vacuno fue mayor que en otras áreas (Morrondo *et al*., 2005). Posteriormente, Morrondo *et al*. (2007) demostraron que el mayor porcentaje de animales que eliminaban huevos eran los que se encontraban en zonas con precipitaciones superiores a los 1000 mm y bajas temperaturas, coincidiendo con Arias *et al*. (2011a), quienes en ganado sacrificado en el noreste de Portugal y noroeste de España detectaron una correlación significativa entre la prevalencia y la intensidad de infección por *D. dendriticum* y las bajas temperaturas.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.2.1 Importancia económica y sanitaria de las helmintosis.

Las enfermedades parasitarias causadas por nematodos grastrointestinales y broncopulmonares así como por trematodos interfieren en la productividad y rentabilidad de las explotaciones causando pérdidas económicas (Almada, 2015). El impacto sobre la producción de las enfermedades parasitarias puede ser directo o indirecto. Las mermas directas están relacionadas con las pérdidas visibles e invisibles y las indirectas con los costes adicionales o el detrimento en los ingresos (Knight & Rushton, 2013). Las mayores pérdidas económicas se producen cuando las helmintosis cursan de manera subclínica, y no hay evidencia de signos clínicos (debilidad, diarrea, apatía, etc.) (Almada, 2015). El cálculo de las pérdidas económicas resulta muy complicado, ya que a menudo pasan desapercibidas y los ganaderos suelen considerar normales los rendimientos más bajos en granjas con niveles medios de parasitación (Díaz *et al.*, 2014). Vercruysse & Claerebout (2001) afirmaron que es difícil estimar a partir de qué grado de infección se producen estas pérdidas, que pueden variar en función del manejo, la nutrición y la zona geográfica. Además, no todas las helmintosis producen las mismas pérdidas productivas, y varían en función de la especie del parásito que afecte al animal (Tabla 1) (Charlier *et al*., 2009, 2014; Holzhauer *et al*., 2011).

Mermas productivas	Nematodos gastrointestinales	Trematodos	Nematodos broncopulmonares
Disminución en la ganancia de peso vivo	+	+	+
Pérdidas en la producción de leche	+	+	+
Reducción en la calidad de la canal	+	-	+
Mortalidad	-	+	-
Disminución de la fertilidad	-	-	+

Tabla 1. Principales pérdidas productivas causadas por las helmintosis.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En animales jóvenes, la tasa de crecimiento se reduce entre un 25-44% (Díaz *et al.,* 2014). En ganado ovino la disminución en la ganancia de peso se sitúa generalmente entre un 10-47% y el crecimiento de la lana puede llegar a descender un 21% (Charlier *et al*., 2014). Thamsborg & Hauge (2001) comprobaron en corderos que las infecciones parasitarias suelen ser subclínicas, a excepción de los meses de verano, en los que aparecen animales con diarrea coincidiendo con los recuentos más elevados de NGI. Además, se detectó una reducción en la ganancia de peso del 33-79%, en función del grado de parasitación, ausente en el grupo testigo sin infección. Asimismo, en terneros infectados por NGI la ganancia de peso fue de 150 g/día mientras que en los no infectados era de 315 g/día. En cuanto a la infección por *F. hepatica*, un tratamiento efectivo permite un aumento de peso del 6% en ganado vacuno (Charlier *et al*., 2014).

La densidad y el volumen óseo también se pueden ver afectados. En corderos en crecimiento se observaron diversos grados de daño óseo debido a la infección por NGI, que variaban de moderado a grave, principalmente *Ostertagia* spp. y *Trichostrongylus* spp. (Thamsborg & Hauge, 2001).

El grado de actividad de los animales también resulta afectado por las infecciones parasitarias, reduciéndose la ingesta de alimentos. En corderos parasitados, Hutchings *et al*. (2000) observaron una disminución del 30,5% del consumo de alimentos, lo que equivalía a 40 minutos menos de pastoreo respecto a los animales no infectados. La administración de un tratamiento antihelmíntico con eprinomectina a novillas parasitadas aumentó un 30% el pastoreo respecto a las que no se desparasitaron, demostrando que una mayor parasitación perjudicaba a los animales ya que reducía el pastoreo de estos y por lo tanto una menor alimentación (Forbes *et al*., 2007).

Las pérdidas en la producción láctea también se atribuyen a las enfermedades parasitarias. No solo se ve afectada la cantidad de leche sino también su composición, por ejemplo, la reducción de la materia grasa (Díaz *et al*., 2014). Se ha demostrado que el tratamiento antihelmíntico en vacas infectadas por NGI permite aumentar la producción láctea entre 0,35-1,5 kg/día por vaca (Gross *et al*., 1999;

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Nødvett *et al*., 2002; Sánchez *et al*., 2004; Mezo *et al*., 2011). Charlier *et al.* (2014) comprobaron que el tratamiento de vacas infectadas por *F. hepatica* con closantel significaba 1 kg/día más de leche. Las infecciones por *D. viviparus* pueden causar pérdidas mucho mayores llegando a alcanzar los 4-5 kg/día de pérdidas de leche por vaca (Holzhauer *et al.*, 2011).

En cuatro granjas de ganado ovino infectado por NGI y *D. dendriticum* y tratado con moxidectina y netobimin, se produjo un aumento de la producción láctea del 19-44% (Fthenakis *et al.*, 2005). Sechi *et al.* (2010) obtuvieron resultados similares en ovejas en semi-intensivo y que fueron tratadas con albendazol, incrementándose su producción en 19,2-32,7 L/año respecto al grupo testigo. Veneziano *et al*. (2004) trataron dos veces con ivermectina y netobimin a 90 cabras en pastoreo y detectaron que producían casi el doble de leche que las que no recibieran el tratamiento.

La calidad de la canal se puede ver afectada por las parasitosis. En 2010 se analizaron 126 hígados de bovinos en Gran Bretaña, de los cuales el 99% tenía lesiones y adultos de trematodos (McGilliwray *et al*., 2013). Además, Charlier *et al.* (2014) observaron que el peso de las canales se reducía en un 0,5% en vacas infectadas por *F. hepatica.*

1.2.2 Prevalencia de helmintos en el norte de España

Son numerosos los estudios sobre prevalencia en el norte de España, gran parte de ellos desarrollados en la Comunidad Autónoma de Galicia (Tabla 2), lo que sin lugar a dudas reslta la importancia de las infecciones por helmintos en diferentes especies de ganado, especialmente si se mantienen en sistemas pastoriles.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

BOVINO			
PARÁSITO	**PREVALENCIA**	**LUGAR**	**AUTOR**
Trichuris spp.	1 %	Galicia	Painceira, 2012
	0.2 %		Pato *et al*., 2009a
	1 %		Díaz, 2006
Capillaria spp.	2 %		Pato *et al*., 2009a
	2 %		Díaz, 2006
	9 %		Painceira, 2012
Nematodirus spp.	0.2 %	Galicia	Painceira, 2012
	0.2 %	Galicia	Pato *et al*., 2009a
Estrongílidos	54 %	Cantabria	Rojo, 1986
	46 %	Navarra	Tarazona, 1985
	59 %	Galicia	Pato *et al*., 2009a
Fasciola hepatica	4-36 %	Cantabria	Rojo, 1986
	44 %	Galicia	Morrondo *et al*., 2003
	30 %	Galicia	Paz-Silva *et al*., 2003*
	28 %, 35 %	Galicia	Arias *et al*., 2004*; 2010*
	25 %	Galicia	Panceira, 2012
Dicrocoelium dendriticum	36 %	País Vasco	García y Juste, 1987
	6-8 %	Galicia	Morrondo *et al*., 2003
	6-8 %	Galicia	Díaz *et al*., 2005; 2007
	7 %	Galicia	Painceira, 2012
Calicophoron daubneyi	17 %	Galicia	Morrondo *et al*., 2003
	16 %, 10 %	Galicia	Díaz *et al*., 2005; 2006*
	12 %	Galicia	Painceira, 2012
OVINO			
PARÁSITO	**PREVALENCIA**	**LUGAR**	**AUTOR**
Trichuris spp.	5.94 %	Galicia	Freiría, 2003
	1 %	Galicia	Painceira, 2012
Capillaria spp.	5 %	Galicia	Painceira, 2012
Nematodirus spp.	39,2 %	Galicia	Pedreira *et al*., 2001b
	8,5 %	Galicia	Freiría, 2003
	13,6 %	Galicia	Cienfuegos *et al*., 2009
	7,5 %	Galicia	Painceira, 2012
Estrongílidos	91-94 %	Galicia	Pedreira *et al*.,2006 Cienfuegos *et al*., 2009
	63 %	Galicia	Painceira, 2012

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

F. hepatica	30,3 %	Galicia	Pedreira *et al*., 2001b
	6 %	Galicia	Vázquez *et al*., 2008
	9,5 %	Galicia	Cienfuegos *et al*., 2009
	8 %	Galicia	Painceira, 2012
	12 %	Galicia	Cienfuegos *et al*., 2009
D. dendriticum	1%	Galicia	Vázquez *et al*., 2008, Cienfuegos *et al*., 2009
C. daubneyi	0,7-8,5 %	Galicia	Vázquez *et al*., 2008
	1,1 %	Galicia	Cienfuegos *et al*., 2009
	1 %	Galicia	Painceira, 2012
CAPRINO			
PARÁSITO	**PREVALENCIA**	**LUGAR**	**AUTOR**
Trichuris spp.	14,8 %	Galicia	Bejar, 2011*
	13 %	Galicia	Vázquez Rodríguez, 2016
	10.39 %	Galicia	Bejar, 2017
Nematodirus spp.	25,2 %	Galicia	Bejar, 2011
	14,15 %	Galicia	Bejar, 2017
Estrongilídos	86,7 %	Galicia	Bejar, 2011
	46 %	Galicia	Vázquez Rodríguez, 2016
	83,59 %	Galicia	Bejar, 2017
F. hepatica	1,31 %	Galicia	Bejar, 2017
	1,7 %	Galicia	Alonso, 2016
D. dendriticum	0,26 %	Galicia	Bejar, 2017
C. daubneyi	0,79 %	Galicia	Bejar, 2017
Protostrongílidos	75 % y 46,7%	Galicia	Cienfuegos *et al.*, 2007; 2009
	11,6 %	Galicia	López *et al*., 2010; 2011
	66,7-100 %	Galicia	Bejar, 2017

(*Estudios en los que se realizaron pruebas de serodiagnóstico)

Tabla 2. Prevalencia individual de helmintos en rumiantes del noroeste de España.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.3 INTEGRACIÓN DEL CONTROL DE HELMINTOSIS EN HERBÍVOROS

El control integrado consiste en la combinación de diversas técnicas y métodos que interfiriendo lo menos posible en el medio ambiente permiten combatir las parasitosis manteniéndolas a un nivel que no sea perjudicial para el animal (FAO, 1972). Este tipo de control busca disminuir el empleo de tratamientos farmacológicos convencionales, y así reducir la excesiva dependencia de los antihelmínticos con el fin de frenar el desarrollo de resistencias preservando la eficacia de los fármacos existentes (Gómez-Rincón, 2006). El control integrado se basa en dos principios, acción sobre el HD y acción sobre el medio.

1.3.1 Acción sobre el hospedador definitivo

Durante los últimos 60 años la lucha contra las parasitosis de los rumiantes se ha basado exclusivamente en la utilización de fármacos. Sin embargo, la aparición de resistencias y las limitaciones de su empleo, cada vez más en aumento, han obligado a la revisión de los actuales sistemas de control de las helmintosis en los animales surgiendo terapias alternativas como la fitoterapia y las partículas de cobre.

- Farmacológico

Entre 1960 y 1980 se desarrollaron la mayoría de los fármacos antihelmínticos (AH) actuales, y en los 20 años siguientes se continuó mejorando las moléculas existentes para aumentar la especificad (Ballesteros, 2018). Entre los principales grupos se encuentran:

- Bencimidazoles (BDZ) y probencimidazoles: derivan del tiabendazol, su mecanismo de acción consiste en su unión a la tubulina del parásito, inhibición de la polimerización y pérdida de microtúbulos citoplasmáticos (Lacey, 1990b). Tienen un amplio espectro, alto margen terapéutico, y son eficaces frente a los NGI. Son eficaces frente a estadios larvarios, adultos y huevos, aunque algunos tienen efecto teratogénico (Valcárcel *et al*., 2002).
- Imidazotiazoles (IM) y pirimidinas: actúan como agonistas colinérgicos sobre los receptores sinápticos y extrasinápticos de las membranas de las células musculares del nematodo, provocando la despolarización de la membrana y con ello la

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

contracción muscular rápida y en consecuencia una parálisis espástica (Martin, 1997). Esta parálisis finalmente conduce a la muerte del nematodo o la expulsión de su hospedador (Whitaker *et al*., 2016). El levamisol es efectivo frente a los estados maduros de los NGI y las formas juveniles y maduras de nematodos pulmonares, pero poco eficaz frente a las larvas en hipobiosis y carece de actividad ovicida (Lara, 2003).

- Lactonas macrocíclicas (LM): funcionan como agonistas de los canales iónicos, uniéndose a los receptores de los canales de cloro de las células de los nematodos, lo que induce la permeabilidad a los iones cloruro. Inhiben la musculatura faríngea, evitando así la capacidad para alimentarse y parálisis en los órganos reproductivos (Ardelli & Prichar, 2008).
- Salicilanilidas: su mecanismo de acción es a través del desacoplamiento selectivo de la fosforilación oxidativa mitocondrial del parásito (Skuce & Fairweather, 1990), y se emplean frente a trematodos hepáticos adultos y nematodos (McKellar& Jackson, 2004).
- Derivados de aminoacetonitrilo: actúan como modulador alostérico positivo del receptor de la acetilcolina MPTL-1 favoreciendo su apertura e impidiendo que se cierre, creando un flujo constante de iones que genera la despolarización de las células musculares y la parálisis de los nematodos (Rufener *et al*., 2009b, 2010).
- Espiroindoles: interfieren con los receptores nicotínicos de la acetilcolina del subtipo B, produciendo la parálisis flácida del parásito (Qian *et al*., 2006).

- Problemática en el uso de los antihelmínticos

La función terapéutica y el amplio espectro de seguridad de estos fármacos conlleva a su empleo masivo y a una mala dosificación según el peso del animal por lo que en consecuencia han aparecido numerosos problemas como son la presencia de residuos en los alimentos, la ecotoxicidad y, el más importante actualmente, la aparición de resistencias.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Residuos en los productos destinados al consumo humano

Cuando se emplean fármacos antiparasitarios, la gran mayoría de los compuestos y formas comerciales necesitan un tiempo de espera, tanto en leche como en carne, antes de ser destinados al consumo humano. Se ha estudiado la posibilidad de que una vez pasado el tiempo de espera siguiera habiendo presencia de residuos en alimentos como por ejemplo el queso, de tal forma que se pudiera demostrar su resistencia a los diferentes procesos térmicos. En Perú, se realizó un estudio en vacas Holstein y se encontraron metabolitos de triclabendazol en leche que más tarde fueron encontrados en queso fresco, aunque en concentraciones por debajo del límite legal. Esto coincide con el estudio de Power *et al*. (2013) en el que tras la administración de closantel a vacas en lactación y la elaboración de queso, mantequilla y leche en polvo con su leche encontraron residuos en todos estos productos por lo que se concluyó que resistían a los diferentes procesos que permitían su elaboración. Después de administrar una combinación de levamisol y oxiclozanida a vacas destinadas a producción láctea no se encontraron residuos en leche pasados 11-13 ordeños, sin embargo, se observaron residuos de ambos fármacos en leche de los primeros ordeños que había sido almacenada o sometida a un proceso de fermentación (Whelan *et al*., 2010).

Contaminación ambiental

Los antihelmínticos no son metabolizados completamente por el animal, y parte de sus derivados son eliminados en leche, orina y heces. Estos pueden ser tóxicos para la fauna que se encuentran de forma natural en el medio y que contribuye a la degradación de las heces. En los últimos años han surgido numerosas cuestiones en torno al efecto negativo de dichos residuos sobre la población de insectos que se traduce en menor degradación de las heces en los pastos y posterior acumulación.

El uso de lactonas macrocíclicas no solo repercute sobre la fauna invertebrada si no que la disminución de esta afecta a sus depredadores como por ejemplo las aves. Para valorar este posible efecto, durante dos años, se realizó un estudio empleando tres

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

tratamientos a base de bolos de cobre, deltametrina, triclabendazol y una combinación de estos dos últimos. Los resultados revelaron que la densidad de larvas de artrópodos se había reducido de forma significativa cuando se empleaban deltrametrina y triclabendazol y cuando ambos tratamientos se combinaron. En cuanto a los bolos no afectaron a la población de invertebrados (Gilbert *et al*., 2019). En otro estudio en el que se valoró el impacto sobre la mosca *Scathophaga stercoraria*, cuya cría se produce en el estiércol, se concluyó que los programas destinados a reducir la aparición de resistencias antihelmínticas también limitan el impacto negativo de los tratamientos sobre la población de moscas en las heces (Cooke *et al*., 2017). Otros insectos implicados en la degradación de las heces son los escarabajos peloteros (Scarabaeidade: *Aphodius*), que prefieren estiércol no tratado frente al que procede de animales que han recibido doramectina o ivermectina (Webb *et al*., 2010; Errouissi & Lumaret 2010; Römbke *et al*., 2010). Por el contrario, Manning *et al*. (2017) emplearon ivermectina, y observaron que sus residuos no producían ningún efecto letal sobre los escarabajos adultos, destacando que pese a todo, los residuos de antihelmínticos seguían eran una amenaza significativa para las poblaciones de escarabajos peloteros. Esto coincide con otro estudio (Jochmann *et al*., 2016) en el que se añadieron distintas concentraciones de ivermectina a heces de ganado bovino y al comparar con la muestra testigo, se detectó una disminución en la población de moscas en las heces con ivermectina.

En un trabajo realizado en el parque de Doñana (suroeste de España) investigaron los efectos de la administración de ivermectina a corto y largo plazo sobre escarabajos peloteros Verdú *et al*., 2018). Se comprobó que el grado de colonización del estiércol, su desagregación y reubicación, era menores en las zonas que tenían heces de animales tratados con ivermectina, lo que indica que los escarabajos peloteros en esta zona se vieron afectados por el tratamiento. Además, todos los escarabajos muertos se encontraron en la parcela con heces tratadas. Los resultados de este estudio demuestran que el incremento de la ganadería y el consecuente aumento del empleo de antihelmínticos es perjudicial para las poblaciones de escarabajos peloteros.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Otras moléculas como la moxidectina fueron testadas para ver su posible efecto ecotóxico. Se añadieron diferentes concentraciones de moxidectina directamente sobre heces de ganado vacuno en recipientes de plástico, y se introdujeron 11 especies distintas de moscas para poder valorar el efecto sobre ellas. Los resultados obtenidos mostraron que, incluso las concentraciones bajas de moxidectina, provocaron efectos letales junto a un retardo del crecimiento en la mayoría de las especies (Blanckenhorn *et al*., 2013). A pesar de ello la dosis letal para la moxidectina era aproximadamente 10 veces mayor que para la ivermectina, siendo por lo tanto menos tóxica coincidiendo con Lumaret *et al*. (2012) que señalaron que la moxidectina era la menos tóxica de las lactonas macrocíclicas. En varios estudios desarrollados en Canadá detectaron que la actividad de los insectos disminuía en las heces de bovinos tras una primera aplicación del tratamiento y que el efecto tenía una duración más o menos duradera en función del producto y de la especie de insecto. En cuanto a la toxicidad concluyeron que: doramectina > ivermectina = eprinomectina > moxidectina. Esta misma clasificación fue obtenida en otros ensayos realizados en Australia y Hungría (Wardhaugh *et al*., 1996; Farkas *et al*., 2003).

Lumaret *et al*. (2012) concluyeron que los residuos de los benzimidazoles y levamisol/morantel en las heces eran poco tóxicos para la fauna coprófaga. Por el contrario, la mayoría de las lactonas macrocíclicas, la piperazina o los piretroides de síntesis eran altamente tóxicos. Esta letalidad trae consigo la falta de degradación de las heces en los pastos lo que puede tener consecuencias en un futuro sobre la biodesiversidad y su equilibrio (Floate *et al*. 2001). Es importante recalcar que otras especies se pueden ver afectadas como por ejemplo los hongos. Según Kollmann *et al*. (2004) la exposición a largo plazo a la ivermectina puede reducir la producción y germinación de esporas de hongos como *Fusarium oxysporum*.

Aparición de resistencias

Desde hace décadas algunas especies de helmintos en particular los NGI de los pequeños rumiantes han conseguido evitar el efecto de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

determinados antihelmínticos, fenómeno conocido como "resistencia antihelmíntica" (RA) la cual se define como la capacidad de un organismo para sobrevivir a una dosis de fármaco letal para dicha especie (Lara, 2003). La principal causa es el uso indiscriminado de AH de tal forma que se produce una selección de los individuos resistentes (James *et al*., 2009; Papadopoulos *et al*., 2012). La herencia de dicha resistencia es la característica más importante, la cual se produce cuando la presión ejercida por el tratamiento elimina los nematodos susceptibles produciéndose un incremento de individuos portadores de genes que hacen que sean resistentes a los medicamentos transmitiéndolos a las siguientes generaciones (Köler, 2001).

Las RA se pueden clasificar de distintas formas en función de la sensibilidad del parásito al fármaco (Mottier & Lanusse, 2001):

- Intrínseca: la insensibilidad hacia el fármaco por parte de los parásitos se produce ya que hay una ausencia de receptores por lo que imposibilita el modo de acción del fármaco, esto ocurre en trematodos y cestodos.
- Adquirida: se presenta cuando los parásitos sí son susceptibles al fármaco pero que, posteriormente, debido a las modificaciones genéticas heredadas dejan de serlo.

Si la RA se produce para uno o más fármacos se puede clasificar como (Craig, 1993):

- Paralela: si una población es resistente a una sustancia química también lo es a otro compuesto con un mecanismo de acción similar.
- Cruzada: si una población es resistente a varios antihelmínticos con mecanismos de acción diferentes.

Son numerosos los factores que contribuyen al desarrollo de la RA, según Jabbar *et al*. (2006), destacando aquellos **biológicos**, **genéticos** y **de manejo**:

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Biológicos: están relacionados con los cambios que se puedan producir en la morfología o en la acción patógena de un parásito según sea resistente o sensible.
- Genéticos: cuanto mayor sea el número de genes relacionados con la resistencia mayor será su perpetuación.
- Manejo: son los más importantes ya que están directamente relacionadas con el ganadero y el manejo de su explotación, lo cual puede llevar al desarrollo de una resistencia o disminuirla. Por ejemplo:
  - Frecuencia del tratamiento: un intervalo demasiado corto entre tratamientos puede provocar una presión de selección intensa (Morgan & Coles, 2010; Knapp-Lawitzke *et al*., 2015) o puede provocar que los parásitos resistentes sobrevivan al tratamiento y puedan reproducirse dejando una población con genes resistentes (Sargison, 2011).
  - Subdosificación: la dosis del tratamiento varía en función del peso del animal. La mayoría de las veces se calcula el peso de forma aproximada o en función del promedio de todo el rebaño. El resultado es la subdosificación que no permite tratamiento efectivo y que además hace que sobrevivan parásitos resistentes (Craig, 1993).
  - Ausencia de rotación entre familias de antihelmínticos.
  - Entrada de animales: la administración de un tratamiento eficaz a los animales comprados o traídos a una explotación es muy importante para minimizar las posibilidades de resistencias. El uso de un tratamiento durante el periodo de cuarentena que no sea del todo eficaz podría provocar que los parásitos transmitieran genes de resistencia a la siguiente generación. Además, se podría alterar la proporción de genes resistentes en la explotación mediante la eliminación de los NGI susceptibles capaces de diluir dicha resistencia (Sutherland & Leathwick, 2011). Por el contrario, si en una explotación ya se han detectado parásitos con genes resistentes la introducción de animales sin desparasitar podría ayudar a diluir la población resistente mejorando la eficacia de los AH (Coles, 2002).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

En cuanto a la detección de la RA se han descrito numerosas técnicas (Fig. 9) que permiten conocer si en una población de nematodos hay presencia de resistencia o de genes resistentes.



Fig. 9. Pruebas empleadas en la detección de resistencias.

La gran mayoría de los estudios sobre resistencias se han realizado en pequeños rumiantes y por el contrario muy pocos hacen referencia a resistencias de nematodos de ganado vacuno (Tablas 3 y 4). Hay diferentes razones por las que se produce esta situación (Lara, 2003) en primer lugar las diferencias genético-fisiológicas de ambas especies, como por ejemplo el desarrollo de una menor inmunidad por parte de las cabras que provoca un mayor empleo de tratamientos (Coles, 2002). El manejo de los animales también podría influir ya que normalmente solo se trata el ganado vacuno joven escapando de la presión de selección la población parasitaria del resto del rebaño (Jackson & Coop, 2000). En bovinos, generalmente el empleo de antihelmínticos es menor y las novillas se suelen tratar hasta que adquieran inmunidad de adultas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resistencias a antihelmínticos en pequeños rumiantes					
Área	**AH**	**Vías de administración**	**Granjas resistentes**	**Parásitos resistentes**	**Autor(es)**
Francia	BZ NET	VO	10 10	*Teladorsagia* spp. *Haemonchus* spp. *Trichostrongylus* spp.	Geurden *et al*., 2014
Grecia	BZ LEV MOX IVM	VO	3 3 1 1	*Teladorsagia* spp. *Haemonchus* spp. *Trichostrongylus* spp.	Geurden *et al*., 2014
Italia	BZ LEV	VO	2 2	*Teladorsagia* spp. *Haemonchus* spp. *Trichostrongylus* spp.	Geurden *et al*., 2014
Reino Unido	BZ LEV AVM MIL	VO VO VP VP	24 1 7 13	*Trichostrongylus* spp.	McMahon *et al*., 2013
Eslovaquia	ALB IVM	VO VP	1 6	*Trichostrongylus* spp. *Ostertagia* sp.	Cernanska *et al*., 2006
Suecia	IVM ALB	VP	2	*Haemonchus* spp.	Höglund *et al*., 2009
Resistencias a antihelmínticos en bovinos					
Alemania	IVM MOX	VP	1 1	*Cooperia* spp, *Ostertagia* spp	Geurden *et al*., 2015
Francia	IVM MOX IVM	VP	1 3 2	*Cooperia* spp.	Geurden *et al*., 2015
Dinamarca	IVM	VP	3	*Ostertagia* spp. *Cooperia* spp.	Peña-Espinoza *et al*., 2016

Tabla 3. Estudios publicados de resistencias a antihelmínticos (AH) en Europa. Avermectina (AVM), Benzimidazol (BZ), Ivermectina (IVM), Levamisol (LEV), Milbecmicina (MIL), Moxidectina (MOX), Netobimina (NET).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Resistencias a antihelmínticos en pequeños rumiantes					
Área	**AH**	**Vías de administración**	**Granjas resistentes**	**Parásitos resistentes**	**Autor(es)**
Castilla y Léon	IVM MOX ABZ LEV	VP VP VO VO	10	*Teladorsagia* spp.	Martínez-Valladares *et al.*, 2015
	ABZ LEV IVM	VO VO VP	3 14 7	*Trichostrongylus* spp. *Teladorsagia* spp	Martínez-Valladares *et al.*, 2013b
	AB IVM LEV	VO	8	*Teladorsagi* spp. *Trichostrongylus* spp.	Álvarez-Sánchez *et al.*, 2006
Galicia	BZ MIL	VO VP	13 2	*Teladorsagia* spp, *Trichostrongylus* spp.	Diez-Baños *et al.*, 2008
Resistencias a antihelmínticos en bovinos					
Castilla y Léon	IVM MOX	VP VP	6	*Trichostrongylus* spp. *Ostertagia* spp	Martínez-Valladares *et al.*, 2015

Tabla 4. Estudios publicados de resistencias a antihelmínticos (AH) en España. Albendazol (AB), Avermectina (AVM), Benzimidazol (BZ), Ivermectina (IVM), Levamisol (LEV), Milbemicina (MIL), Moxidectina (MOX), Netobimin (NET).

Terapias alternativas

El aumento de resistencias por el uso indiscriminado de tratamientos antihelmínticos ha llevado a la búsqueda de alternativas terapéuticas.

Fitoterapia

La fitoterapia y el uso de taninos condesados (TC) lleva desarrollándose desde los años 90 hasta la actualidad (Hoste *et al*., 2015). Entre sus beneficios destaca su sostenibilidad y que es una solución económica al problema de los parásitos, permitiendo reducir el uso de fármacos y en consecuencia de las resistencias. Sin embargo, se desconoce la seguridad de estos productos como por ejemplo la

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

tolerancia, los efectos secundarios o los posibles residuos en carne y leche. En algunos países ya se comercializan productos a base de extractos de plantas empleados en humanos o animales de compañía. No obstante, en ganado son necesarias grandes cantidades de producto elevando su coste. Otra limitación es la disponibilidad de estas plantas ya que en gran parte de los estudios se emplean plantas propias de una región que no crecen en otras y que no se cultivan por falta de mercado. La fitoterapia se basa en el uso de taninos que son metabolitos secundarios de las plantas presentes en grandes cantidades en numerosas especies y que no son esenciales para el crecimiento de la planta pero que constituyen un mecanismo de defensa frente a diferentes patógenos, insectos, etc. (Mueller-Harvey, 2006). En cuanto al funcionamiento de los TC existen dos hipótesis (Hoste *et al*., 2006):

- Efecto indirecto: mejoran la respuesta inmunitaria del hospedador por lo que es más resistente a la infección parasitaria. Los TC favorecen la degradación ruminal de las proteínas por lo que su presencia en la dieta aumenta la absorción de aminoácidos en el intestino, y se desarrolla una respuesta inmunitaria más fuerte frente a los NGI (Min *et al*., 2004; Waghorn, 2008).
- Efecto directo: se debe a la capacidad que tienen para unirse a las proteínas y glicoproteínas de la cutícula de los adultos y de la vaina de las L3, impidiendo la secreción de enzimas que participan en funciones esenciales (Hoste *et al*., 2006).

Los TC disminuyen de forma considerable la eliminación de huevos. En un grupo de 10 ovejas tratadas con TC de acacia negra los recuentos a partir de la octava semana fueron de 500 hpg mientras que en el grupo testigo se obtuvieron 1500 hpg. Este recuento fue aumentando a lo largo de las semanas llegando a 1000 hpg y 3.500 hpg en ambos grupos transcurridas 13 semanas por lo que se concluyó que, aunque no era un método tan eficaz como un tratamiento convencional, resultaba una alternativa útil (Cenci *et al*., 2007).

Jamous *et al*. (2017) demostraron *in vitro* que 22 extractos de plantas extraídas en Palestina tenían efecto inhibitorio sobre L3 de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

NGI, siendo los extractos derivados de la familia Rhamnaceae los de mayor actividad AH (70-89%).

Niezen *et al*. (2002) detectaron una reducción en la eclosión y posterior desarrollo larvario de *T. colubriformis* en las heces de corderos alimentados *ad libitum* con plantas ricas en TC como *Dorrycnium rectum*. Otros estudios coinciden al destacar que el efecto de los TC tiene lugar en las heces, y no era por un mejor estado del animal debido a la nutrición (Paolini *et al*., 2005; Min *et al*., 2004). Athanasiadou *et al*. (2006) observaron que ciertos parásitos intestinales tenían mayor sensibilidad al tratamiento que las de abomaso, al contrario que Paolini *et al*. (2005).

La mayoría de las plantas estudiadas tiene efecto larvicida, y solo el ajo común (*Allium sativum*) inhibe la eclosión de los huevos (Fig. 10).

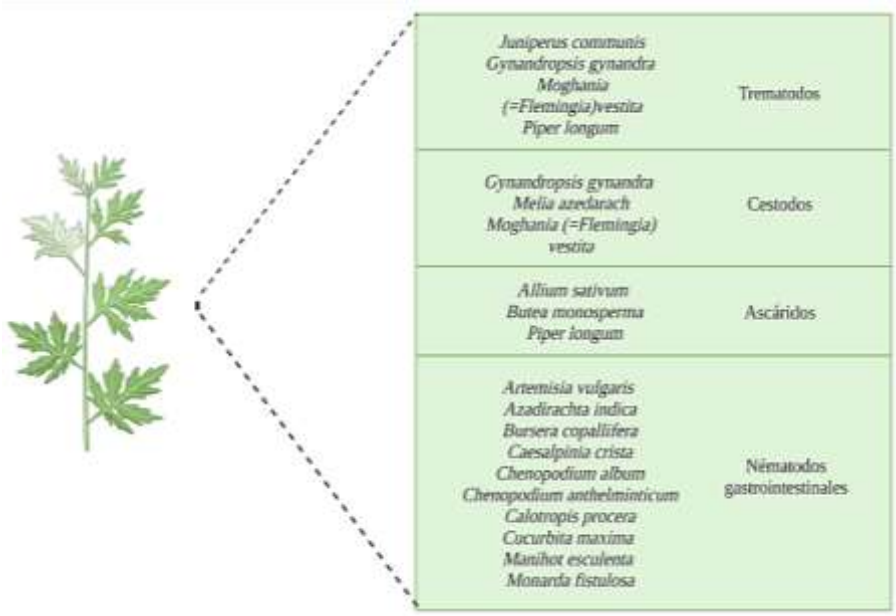


Fig. 10. Plantas con actividad antihelmíntica.

Partículas de cobre (COWPs)

En un principio las COWPs fueron comercializadas en forma de suplemento alimentario para cubrir las deficiencias ocasionadas por el pastoreo en zonas pobres en cobre. Bang *et al*. (1990b) observaron que las ovejas que lo recibían presentaban menor cantidad de nematodos gastrointestinales y desde entonces, numerosos estudios han mostrado sus efectos positivos para el control de estos parásitos y en concreto frente a *Haemonchus contortus*. La administración se realiza a través de dos formulaciones, directamente en el alimento o en bolos (Burke & Miller, 2020). Bang *et al*. (1990b) concluyeron que ambas formulaciones tenían efecto inmediato y que el cobre penetra en la cutícula de *H. contortus*.

Chartier *et al*. (2000), en corderos que recibieron COWPs, observaron una reducción en los coprocultivos del 96 % de larvas de *H. contortus* y un 56 % de *Teladorsagia circumcinta*. coinciden en que las COWPs fueron efectivas en un 75 % frente a *H. contortus*, sin embargo, detectaron poco efecto frente a *T. circumcincta* o *Trichostrongylus colubriformis* en cabras. Knox (2002) observó una reducción del 37 % de L3 *H. contortus* en las heces dispuestas en los coprocultivos después de una administración, 7 días antes de la infección en ganado ovino.

Burke *et al*. (2004) estudiaron cuál era la dosis óptima de COWPs en corderos infectados experimentalmente con *H. contortus*. Administraron a los 28 días post-infección 0, 2, 4 y 6 g de COWPs, y comprobaron que, al emplear 2 g, se producía una disminución notable de eliminación de huevos (250 hpg) frente al grupo testigo (8.000-12.000 hpg). Knox (2002) obtuvieron resultados similares administrando 2,5 g, siendo los recuentos en el grupo tratado de 250 hpg y de 25.000 hpg en el grupo testigo. Aunque con dosis de 4 y 6 g no se produjeron signos de toxicidad, estas cantidades podrían llevar a los corderos a enfermar por lo que estiman que 2 g es la cantidad más segura.

Chartier *et al*., (2000), administraron entre 2-4 g a cabras infectadas de forma natural con *T. circumcincta*, *H. contortus y T.*

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

colubriformis, comprobaron que las COWPs no tenían eficacia frente a *Teladorsagia* spp., *Trichostrongylus* spp. y que se producía una reducción del 75 % del recuento larvario de *Haemonchus* spp., así mismo, detectaron una disminución en la eliminación fecal de huevos a lo largo de varias semanas.

En cuanto al posible efecto tóxico del uso de COWPs en animales como alternativa terapéutica, si bien es sabido que su administración aumenta las concentraciones de cobre en el hígado numerosos estudios señalaron que en corderos y cabras no producían toxicidad (Knox, 2000; Burke & Miller, 2006; Burke *et al*. 2007). Martínez Ortiz de Montellano *et al*. (2007) detectaron un riesgo potencial en cabras.

1.3.2 Acción sobre el medio

- Manejo de los pastos

El pasto es el medio de transmisión de las formas infectantes de los nematodos gastrointestinales al hospedador en pastoreo en extensivo (Waller, 1997). El tipo de pastoreo puede facilitar o limitar la supervivencia de los estadios libres por lo que una de las formas de control de las parasitosis es la reducción de la contaminación en el medio mediante el manejo del pasto. Existen distintas técnicas entre las cuales destacamos las siguientes:

  - Prácticas agronómicas: el arado y roturación permiten exponer los parásitos a la luz solar de forma directa aumentando la mortalidad. Las bajas temperaturas y la congelación provocan estos mismos resultados de tal forma que el riesgo de contacto entre parásitos y hospedadores se reduce (Cabaret & Mangeon, 1994).
  - Saneamiento de la pradera: permite la reducción de las formas parasitarias por muerte natural. Depende de la climatología de la zona ya que en zonas tropicales tres meses de reposo son suficientes mientras que en zonas templadas se necesitan seis meses (Uriarte *et al*., 2000).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Retraso de la salida al pasto: permite la muerte natural de los parásitos atrasando la salida de los animales.
- Pastoreo limpio (*clean grazing*): pastos limpios que no han sido aprovechados en los últimos 12 meses.
- Dosificación y traslado (*dose and move*): desparasitación de los animales para su posterior traslado a otro pasto (Stronberg & Averbeck, 1999). Esta estrategia podría favorecer la aparición de resistencias, ya que el pasto se contaminará solo con nematodos resistentes (Abbot *et al*., 2004).
- Pastoreo rotacional: consiste en dividir el pasto en franjas en donde una se utiliza con los animales y las otras permanecen en descanso. Por lo tanto, se definen periodos de pastoreo (tiempo que está cada franja con animales) y períodos de descanso (tiempo en que cada franja se recupera del pastoreo) (Pezo, 2018). Prasad *et al*. (2019) observaron en corderos en pastoreo rotacional porcentajes de reducción de hpg significativamente mayores (54,52 %) que aquellos que se encontraban en un sistema continuo (48,30 %). El pastoreo rotacional permite que el periodo de descanso sea adecuado de tal forma que el pasto se reponga asegurándose que su longitud sea mayor a 20 cm, minimizando las posibilidades de que las L3 sean ingeridas por el hospedador definitivo, ya que suelen permanecer en los 5 primeros centímetros.

- Pastoreo mixto o alternativo: se basa en la especificidad parásito-hospedador o en las diferencias de sensibilidad entre los animales jóvenes y los adultos. El empleo de estrategias que separan los individuos jóvenes de los adultos en el espacio o en el tiempo es de gran utilidad en el control de las helmintosis.
- Pastoreo diferencial: se deja a las crías en un pasto lateral no utilizado por las madres.
- Pastoreo hacia adelante (forward creep grazing): crías y madres van alternando los pastos.
- Líderes y seguidores (leaders and followers): en este sistema participan al menos dos grupos en función de su demanda de nutrientes por lo que aquellos animales con

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mayores necesidades pastorean en primer lugar (líderes) que obtienen las porciones más nutritivas del forraje. Una vez este primer grupo sale ingresa uno nuevo (seguidores) cuyas necesidades nutricionales son menores y que consumirá el pasto remanente. Es importante que el periodo de descanso sea la suma del tiempo de ocupación de ambos grupos (Mahieu *et al*., 2015). Una posible opción en sistemas de producción de leche en ganado vacuno, es que el grupo líder esté constituido por vacas en principio de lactación y con alta producción láctea seguidas de vacas en final de lactación o poco productoras. En ganado vacuno de carne en primer lugar entrarían los animales de engorde o acabado y *a posteriori* aquellos en fase de crecimiento o vacas gestantes.

- Pastoreo con una sola especie: el pastoreo de forma conjunta de corderas y ovejas es una de las principales causas de pérdidas de productividad (Cabaret *et al*., 2002).
- Alternancia de especies: consiste en alternar el pastoreo entre diferentes especies de animales que no comparten las mismas especies de parásitos lo cual permitirá reducir las RA (Eddi *et al*., 1996). Este tipo de pastoreo suele aportar beneficios, pero hay autores que indican que puede incrementar el riesgo de infecciones no específicas ya que la especificidad parásito-hospedador es relativa. Para Niezen *et al*. (1996), la alternancia ovino-bovino en intervalos de 2 a 6 meses resultó eficaz mejorando la producción en ovinos, pero en bovinos provocó pérdidas productivas e incluso incrementos de la carga parasitaria. En un estudio en los que se alternaron cabras y vacas en Guadalupe (Antillas francesas) no observaron diferencias significativas (Mahieu *et al*., 2013). Brito *et al*. (2013) obtuvieron mejores resultados cuando pastaban juntas ovejas y vacas que alternándolas, sin embargo, Hughes *et al*. (2007) señalan que el pastoreo conjunto de ovejas y vacas acelera el desarrollo de RA ya que reduce la población de parásitos *refugia*.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Prevención mediante control biológico

El control biológico se define como el empleo de antagonistas de organismos vivos o sus metabolitos estableciéndose un equilibrio ecológico que permite reducir los daños y efectos ocasionados por dicho organismo perjudicial (Grønvold *et al*., 1996). Es esencial entender que se trata de una medida con efecto regulador, controlando la población para reducir los efectos perjudiciales y no con el objetivo de acabar con el organismo diana (Larsen & Roepstorff, 1999).

Al introducir nuevas especies en un medio nuevo o aumentar la población ya existente se puede alterar el equilibrio del ecosistema provocando más daños que beneficios (Fig. 11), (Gómez-Rincón, 2006), por ello el empleo de estos agentes biológicos tiene que ser selectivo y su acción dirigida a su objetivo, sin perjudicar al resto de organismos del ecosistema. De no ser así, la especie empleada se podría convertir en invasora (Hernández *et al*., 2017).

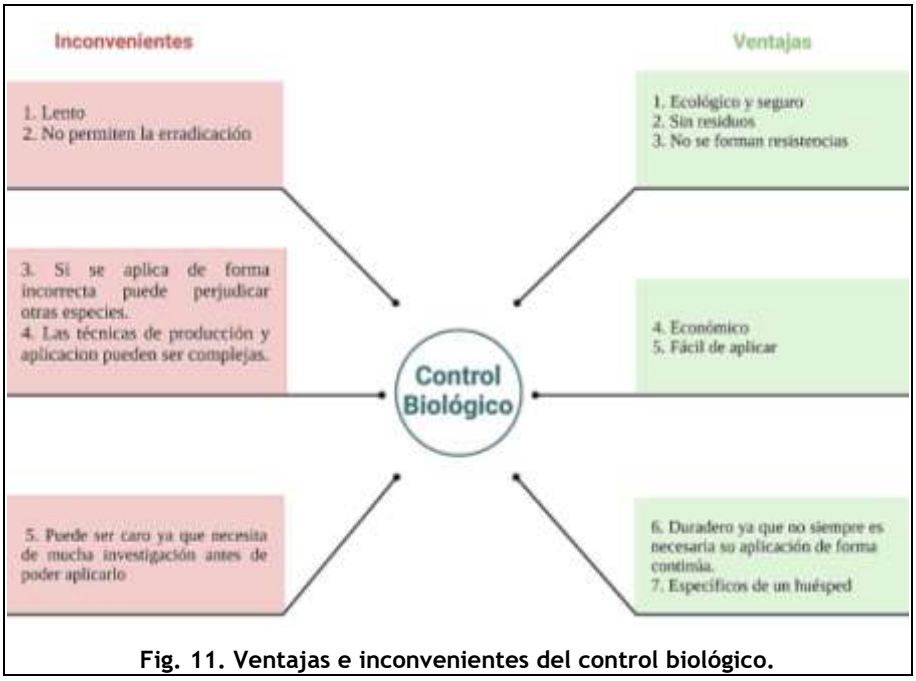


Fig. 11. Ventajas e inconvenientes del control biológico.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Un ejemplo lo constituye el *sapo de caña* introducido en Australia para controlar al escarabajo que afectaba a ese cultivo. El sapo finalmente se alimentó de insectos apoderándose del hábitat de otros anfibios e introduciendo enfermedades que afectaron a la población de sapos y ranas nativos, reduciéndola de forma considerable. Otro es la *mangosta asiática*, que se introdujo en Hawái hace 100 años para controlar las ratas. Al ser las mangostas diurnas y las ratas nocturnas, terminaron alimentándose de huevos de aves en vez de las propias ratas, y en la actualidad ambas especies constituyen un gran problema.

El control biológico debe ser aplicado de forma correcta por especialistas y mediante pruebas previas a su liberación en cualquier entorno seguro (Arias *et al*., 2011b), constituye un procedimiento que entra en el marco de la ganadería ecológica y sostenible ya que permite disminuir los residuos en los productos de origen animal destinados al consumo humano, una menor contaminación ambiental y es una medida alternativa al empleo excesivo de antihelmínticos resultando en la reducción de resistencias (Kwenti, 2017).

En el suelo existen en equilibrio organismos beneficiosos y perjudiciales para especies vegetales y animales. En condiciones normales muchos de estos organismos perjudiciales son controlados por bacterias, hongos, ácaros, etc. que se pueden seleccionar y utilizar en el control biológico. En cuanto a su aplicación hay tres técnicas que se pueden emplear solas o de forma combinada:

- Conservativo: se trata de modificarr las prácticas de cultivo de manera que favorezcan el desarrollo de los agentes de control biológico naturales y sus efectos (Colvin *et al*., 2008).
- Aumentativo: se multiplican de forma artificial en el laboratorio los agentes de control para su posterior aplicación en la destrucción de plagas.
- Clásico: se realiza con agentes que han sido descubiertos e importados de un lugar ajeno al que se quiere aplicar.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Control biológico mediante el uso de hongos parasiticidas

Entre los posibles agentes empleados para el control biológico, el uso de hongos saprofitos con capacidad para alimentarse de las fases libres de nematodos gastrointestinales, es el que mejores perspectivas y resultados ofrece. La mayoría de estos hongos con actividad parasiticida pertenecen a los phylum Ascomycetes y Zygomicetes (Fig. 12). Se han aislado distintas especies en España (Olivares-Bernabéu & Lopez-Llorca, 2002; Gómez-Rincón *et al*., 2006, 2007). En Galicia, el Grupo COPAR ha aislado a partir de heces y de muestras de suelo donde previamente habían pastado animales. Las especies identificadas fueron *Duddingtonia flagrans*, *Mucor circinelloides* (Fig. 13), *Paecilomyces* spp., *Trichoderma* spp. y *Verticillium* spp. (Hernández *et al*., 2017).

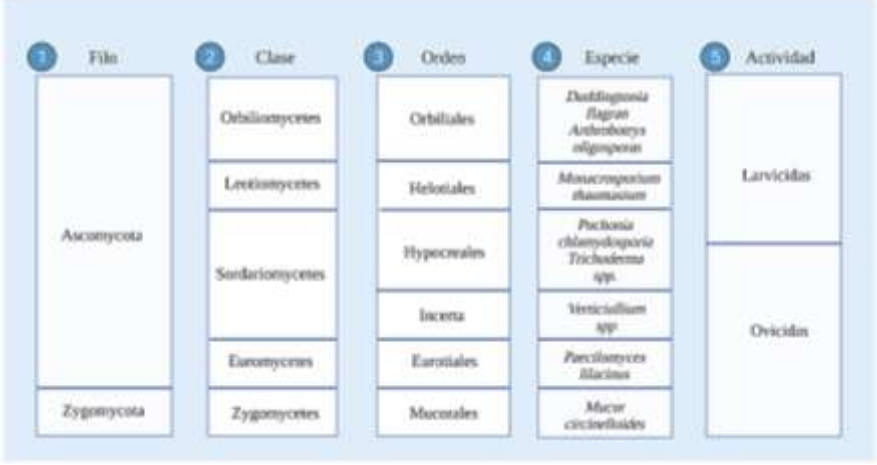


Fig. 12. Clasificación de los diferentes hongos con actividad parasiticida.

Los hongos parasiticidas se pueden clasificar en ovicidas o larvicidas en función de su actividad. La mayor parte de las especies ovicidas pertenecen al phylum Ascomycota.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

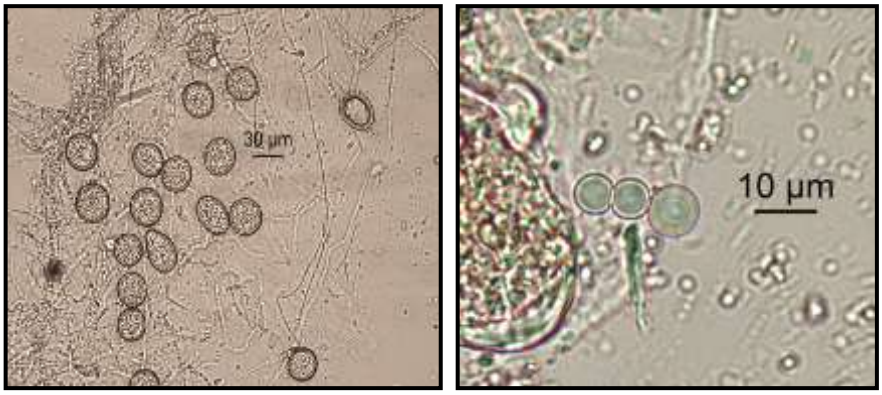


Fig. 13. Esporas de *D. flagras* y *M. circinelloides*.

Hongos con actividad ovicida

La mayor parte de estos hongos se encuentran en el phylum Ascomycota a excepción de *M. circinelloides* que forma parte del phylum Zygomycota. Este grupo ha mostrado ser eficaz frente a huevos de nematodos, trematodos y cestodos, parásitos de rumiantes, équidos y carnívoros (Braga *et al*., 2011; Cazapal-Monteiro *et al*., 2014). Se describen cuatro fases en su mecanismo de actuación: ***contacto, adhesión, penetración*** y ***deliberación***. La fase de contacto, se inicia cuando detectan la presencia de huevos, imprescindible para la estimulación del hongo, y resulta en el desarrollo de las hifas que se adhieren a la cubierta del huevo hasta conseguir penetrar en su interior. Dentro del huevo se produce una liberación de enzimas con actividad proteolítica (Neira-Vielma *et al*., 2018). En esta fase el extremo de la hifa (apresorio) y el haustorio evitan la aparición de soluciones de continuidad en la cubierta. Cuando el hongo ha ingerido el contenido interno a través del haustorio comienza la etapa de propagación colonizando todo el interior mediante la producción de esporas que a su vez abandonaran el huevo en busca de alimento (Fig. 14) (Arroyo-Balán, 2017). Se ha demostrado el efecto antagonista de *M. circinelloides* sobre huevos de *Toxocara canis* sin embrionar y sobre los infectantes (L2 en interior) (Flament-Simon, 2015).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

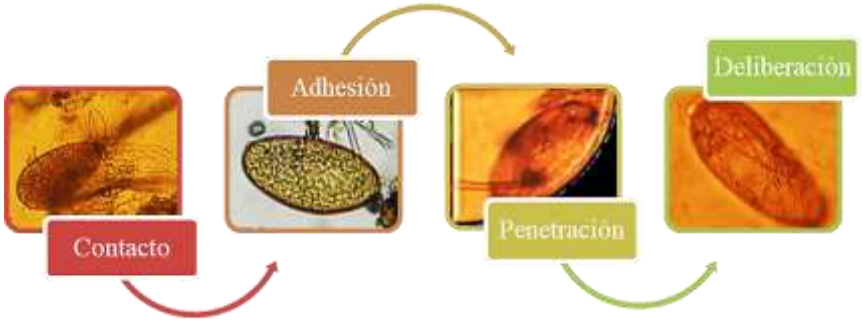


Fig. 14. Fases de actuación de los hongos con actividad ovicida.

- ***M. circinelloides****:* su crecimiento se produce en forma de colonias mediante reproducción asexual y sexual. Al microscopio se aprecia la formación del micelio con hifas que no tienen septos. Crece sin dificultad hasta los 25ºC, pero temperaturas superiores no permiten su desarrollo. Las esporas se disponen en esporangios cuya forma es esférica y sin apófisis (Hernández-Malagón, 2019).

Hongos con actividad larvicida

Las esporas generan el micelio a partir de hifas germinativas, forman ramas que crecen y se curvan creando estructuras con anillos constrictores y trampas donde las larvas de los parásitos quedan retenidas. Este proceso tiene lugar en tres fases, la primera o de captura se produce al moverse las larvas entre el micelio, una vez inmovilizadas las hifas invasivas de los hongos parasiticidas penetran en el interior de las larvas alimentándose y digiriendo los nutrientes (Fig. 15) (Yang & Zhang, 2014). Pese a que se señaló ampliamente la necesidad del contacto directo de los hongos con larvas vivas para estimular la formación del micelio (Bogús *et al*., 2005), se ha demostrado que la estimulación se produce tanto con larvas vivas como muertas, e incluso con productos antigénicos de excreción/secreción de trematodos (Arias *et al*., 2013a; Suárez Sánchez-Andrade, 2017).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

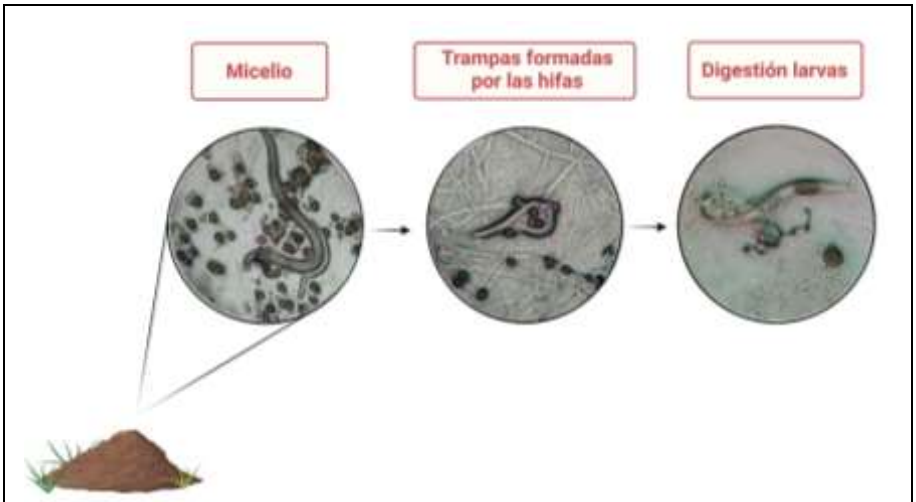


Fig. 15. Fases de actuación de los hongos con actividad larvicida.

- ***D. flagrans***: forma conidios de pared delgada que se encuentran al borde de los conidióforos, y gran cantidad de clamisdosporas con formas ovoides o elípticas (25-50/10-15 µm) rodeadas por una pared gruesa que les confiere una gran resistencia frente a las condiciones externas (Larsen, 1999; Gómez-Rincón, 2006). El rango térmico en el cual *D. flagrans* puede crecer y ejercer su actividad está comprendido entre 10-30ºC. Además, la humedad, la presencia de oxígeno, el pH y la luz pueden influir en su desarrollo. Según Grønvold *et al.* (1999), la humedad tiene influencia positiva, aunque no es un factor limitante. Un medio con pH comprendido entre 7-8 también resulta favorable para su desarrollo, por el contrario, el efecto de la luz directa y poco oxígeno perjudica la formación de redes e hifas (Paz-Silva *et al*., 2011).

Digestibilidad de los hongos parasiticidas

El primer hongo con actividad larvicida que se utilizó para el control biológico de parásitos fue *Arthrobotrys oligospora*, ya que los resultados obtenidos *in vitro* resultaban muy prometedores (Gómez-Rincón, 2006), sin embargo, cuando se comenzó a ensayar *in vivo* se observó que disminuía mucho el efecto larvicida por lo que se

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

concluyó que gran parte del hongo era destruido al pasar por el aparato digestivo (Grønvold *et al*., 1993, Faedo *et al*., 1997). Fue entonces cuando los mismos autores decidieron emplear en idénticas condiciones *D. flagrans* observando que además de crecer adecuadamente, las esporas resistían y se mantenían viables al salir con las heces después de administrarlas vía oral a los hospedadores. Son numerosos los estudios realizados posteriormente que avalan esta teoría. En ganado bovino, Fernández *et al.* (1999) administraron a un grupo de vacas una alta dosis de esporas de *D. flagrans* y la recuperación de larvas en el pasto fue menor que en el pasto en el que se mantenían otro grupo de vacas que recibió una dosis menor. Esta resistencia fue demostrada también con ganado ovino que, tras recibir esporas mezcladas con el alimento, se comprobó que disminuían las larvas de *Haemonchus contortus* en cultivos fecales y que había menor contaminación larvaria del pasto (Fontenot *et al*., 2003). En caprino, tras el análisis de hierba y heces de animales que habían ingerido esporas los resultados obtenidos fueron idénticos (Chartier & Pors, 2003, Ojeda-Robertos *et al*., 2005). También se realizaron estudios en otras especies, los resultados obtenidos frente a estrongilos en équidos (Arias *et al*., 2013b) y frente a *Oesophagostomum* spp. en cerdos (Ferreira *et al*., 2011) demostraron que en estas especies *D. flagrans* también sobrevivía al paso por el tracto gastrointestinal de estos animales. Se sabe que una parte de las esporas son destruidas a su paso por el tracto gastrointestinal, por lo que es importante determinar qué cantidad se pierde para poder administrar las dosis adecuadas ya que de ello depende el resultado final (Paz-Silva *et al*., 2016). Ojeda-Robertos *et al*. (2009) demostraron que en condiciones *in vitro* se perdían un 9 % de esporas en una simulación de digestión del rumen y un 36 % en una digestión abomasal. Cuando hicieron este estudio *in vivo* calcularon que se perdía un 89,7 % de esporas.

Inocuidad de los hongos parasiticidas

En un principio los hongos saprofitos se emplearon para el control biológico frente a patógenos de plantas observando que eran inocuos para los consumidores. En cuanto a las preocupaciones sobre su efecto sobre larvas de vida libre numerosos estudios han demostrado que no

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

se produce tal hecho (Sanyal *et al*., 2008; Palomero, 2015). Faedo *et al*. (2002), observaron en dos experimentos que el crecimiento de *D. flagrans* más allá de las heces era mínimo concluyendo que era muy poco probable un impacto negativo sobre nematodos de vida libre. Saumell *et al*. (2016), obtuvieron el mismo resultado, además comprobaron que la presencia de esporas en el medio no superaba los dos meses ya que otros organismos presentes en el suelo, como los ácaros, se alimentan de estos hongos y que por este motivo es necesaria su administración continua para asegurar la presencia en el ambiente. Además, el aislamiento de diversas especies de hongos saprofitos a partir de heces de animales sanos apoya la conclusión de que no son perjudiciales. Hernández *et al*. (2017) obtuvieron 60 muestras de heces de distintos animales de un parque zoológico en el noroeste de España y en ellas aislaron siete géneros de hongos, de los cuales cinco tienen actividad ovicida, *Fusarium*, *Lecanicillium*, *Mucor*, *Trichoderma* y *Verticillium*.

Se han realizado multitud de estudios desde hace años en los que se han administrado esporas de *D. flagrans* vía oral a distintas especies animales y nunca se han detectado efectos adversos. El peso vivo y el análisis de las muestras de sangre de los animales tratados se han comparado con controles y no se han obervado diferencias significativas, lo cual lleva a pensar que la administración de hongos parasiticidas no se puede asociar con efectos negativos sobre la salud. En el caso de *M. circinelloides* tras numerosos ensayos realizados en los últimos diez años con perros, vacas y caballos no se ha observado ningún tipo de alteración, ni en los animales que ingerían las esporas ni en las personas implicadas en la replicación y multiplicación en el laboratorio de las mismas (Cortiñas *et al*., 2015; Suárez, 2017). Solo existe una referencia bibliográfica en la cual un cerdo vietnamita padeció una neumonía debido a *M. circinelloides* (Evans *et al*., 2018). En España, Cortiñas *et al*. (2015) proporcionando el mismo hongo a lechones no apreciaron ninguna reacción adversa. En un estudio realizado en caballos que ingirieron esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* mezcladas con el alimento durante 64 semanas y a los que se realizaron análisis de sangre y revisiones del sistema digestivo, respiratorio, reproductivo y de la piel, se comprobó que ningún animal

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

presentó signos de constipación, estornudos y que el ciclo de las yeguas no se vio alterado. En cuanto a las muestras de sangre, los valores de hematocrito y hemoglobina se mantuvieron en niveles normales a lo largo de todo el estudio (Hernández *et al*., 2016). Estos resultados coinciden con la disminución significativa de la cantidad de leucocitos descrita por Francisco *et al*., (2009b), tras la aplicación de un tratamiento antihelmíntico a caballos. Tampoco se observaron anomalías en los sistemas digestivo, respiratorio ni reproductivo en animales de un parque zoológico, a los que se les administró una mezcla de *M. circinelloides* y *D. flagrans* durante tres años y medio (Palomero *et al*., 2020).

En otras especies como perros y terneros se han obtenido resultados idénticos (Arroyo-Balán *et al*., 2015; Rodríguez-Rodríguez, 2018). Existen casos de infección cutánea por *Purpureocillium lilacinum* o *Trichoderma* spp en pacientes inmunodeprimidos por. como patógeno oportunista (Hall *et al*., 2004; Gutiérrez-Delgado *et al*., 2016). Los casos de infección por *M. circinelloides* se han detectado también en pacientes inmunodeprimidos (Lazar *et al*., 2014).

Ensayos con herbívoros

Numerosos ensayos en herbívoros han demostrado la eficacia de los hongos parasiticidas, la mayoría se han realizado sobre NGI. Chandrawathani *et al*. (2002), administraron $1x10^6$/animal/día de *D. flagrans* (500.000 clamidoesporas de p.v) durante cinco días, observando que, en los coprocultivos con heces de ganado ovino, se reducían un 90% las larvas *Haemonchus contortus*. El efecto de *D. flagrans* se probó en ovejas en lactación, con corderos que actuaban como grupo "trazador", a partir de 4-5 semanas se empezó a observar la reducción larvaria en los coprocultivos de los corderos. Así mismo, la carga parasitaria fue menor en el grupo "trazador" que aprovechó pastos del grupo tratado frente al que aprovechó el pasto de ovejas control. Sin embargo, los resultados obtenidos de la hierba mostraron que no se había producido disminución de larvas en el pasto (Eysker *et al*., 2006). Casillas-Aguilar *et al*. (2008) suministraron $2x10^6$ clamidosporas de *D. flagrans* /kg p.v/animal a ovejas parasitadas por

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Haemonchus spp. y comprobaron mediante coprocultivo una reducción larvaria del 82% en relación con ovejas del mismo rebaño que no habían ingerido el hongo. Chartier & Pors (2003) administraron $2{,}5x10^5$ esporas *D. flagrans*/kg p.v. diariamente durante cinco meses a cabras parasitadas por *Teladorsagia circumcincta* y *Trichostrongylus colubriformis*, y observaron una reducción larvaria del 50-90% en los coprocultivos analizados.

Waller *et al*. (2006) administraron 250.000 esporas de *D. flagrans*/kg p.v. a tres grupos de 60, 40 y 20 ovejas, y dejaron otros 3 grupos como testigos. Tras seis semanas obtuvieron recuentos bajos de eliminación de huevos, pero las diferencias no fueron significativas y concluyeron que los niveles bajos de parasitación no estaban relacionados con el efecto de las esporas. Esto coincide con Faessler *et al*. (2007) cuyos resultados fueron similares administrando 10^6 clamidosporas/kg p.v. de *D. flagrans* a ganado ovino durante cuatro meses. Epe *et al*. (2008) administraron diariamente, durante tres meses, $5x10^5$ esporas de *D. flagrans* mezcladas con el concentrado a grupos de ovejas y de cabras, no detectaron diferencias de eliminación en el grupo de ovejas y solamente los días 84 y 98 observaron diferencias no significativas en las cabras.

Gómez-Rincón *et al*. (2006) introdujeron corderos en praderas que previamente habían sido aprovechadas por ovejas que habían ingerido $5x10^5$ clamidosporas de *D. flagrans*/kg/p.v/día. En la necropsia pudieron observar una disminución del 20-61% de la infección larvaria. Mendoza de Gives *et al*. (2006) establecieron un grupo ovejas que recibió una mezcla de esporas de *D. flagrans* con avena y melaza durante cinco meses y un segundo grupo testigo, cada grupo contaba *a posteriori* con trazadores libres de nematodos gastrointestinales. Tras la realizaron de las necropsias, se observó una reducción del recuento larvario del 56% de *Ostertagia circumcinta* y del 94% de *Nematodirus* spp. en el grupo trazador que seguía a los animales que habían recibido las esporas. En cabras sacrificadas que habían recibido $0{,}5x10^6$ esporas de *D. flagrans*/kg/p.v. junto a 100 g de cebada/día durante 16 semanas, el recuento larvario post-mortem se redujo un 65% frente al grupo no tratado (Gómez-Rincón *et al*., 2007).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Santurio *et al*. (2011), después de administrar 10^6 esporas de *D. flagrans* a ovejas durante un año, comprobaron una disminución del recuento de hpg del 37,6% en el grupo tratado respecto al testigo, destacando que el grupo que recibió las esporas no necesitó tratamiento antihelmíntico debido al bajo recuento de hpg, mientras que fue necesario desparasitar al grupo testigo en tres ocasiones a lo largo del estudio. Concluyeron que el control biológico con hongos parasiticidas permitía reducir el número de desparasitaciones anuales al retrasar la reinfección de los animales.

En équidos numerosos estudios han demostrado la eficacia de *D. flagrans* frente a larvas de ciatostominos. Fernández *et al*. (1999), tras la administración de 10^6 clamidosporas de *D. flagrans*/kg p.v. a caballos pudieron observar que en los coprocultivos mantenidos en condiciones de laboratorio la reducción de las L3 era del 98,4%; en los que permanecieron en el prado, las L3 se redujeron entre 85,8-99,4%. Asimismo, Braga *et al*. (2009a) al añadir esporas de *D. flagrans* a placas Petri que contenían larvas de ciatostominos, observaron una reducción de las mismas del 93,64%. En otro estudio con heces de asnos que recibieran vía oral *D. flagrans.* Araujo *et al*. (2012) detectaron una reducción de larvas de *Strongyloides westeri* del 62,7-85,3%. Paz-Silva *et al*. (2011) evaluaron la actividad de *D. flagrans* frente a ciatostominos de caballos y para ello emplearon 196 muestras de heces recogidas directamente del recto, que dividieron en tres grupos en función del recuento de hpg: <300, 310-800 y >800. A continuación, pulverizaron sobre las heces diferentes dosis de clamidosporas (0,1; 0,2; 0,4 y $0{,}8 \times 10^6$clamidosporas/100 g de heces) y comprobaron porcentajes de reducción larvaria superiores al 94%, siendo mayores en las heces con mayor cantidad de huevos, por lo que concluyeron que, *D. flagrans* es denso-dependiente. Estos resultados coinciden con Baudena *et al*. (2000), quienes dejaron en un prado heces de caballos parasitados por ciatostominos y a los que se había administrado *D. flagrans* (2×10^6/kg p.v.), y observaron que los recuentos de L3 disminuían entre un 66-99%.

El grupo COPAR de la Facultad de Veterinaria (USC), lleva a cabo el control parasitario del parque zoológico Marcelle Natureza desde el año 2011 (Palomero *et al*., 2021). De este modo, se comprobó

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

que en équidos (cebras, asnos y burros africanos) desparasitados eficazmente con tratamientos antihelmínticos, si se les proporcionaba una solución acuosa de *D. flagrans* ($2x10^6$/kg p.v.) mezclada con el alimento, el FECRT (reducción del recuento de huevos de estróngilos) alcanzaba el 59-95% y mediante el estudio del ERP (período de reaparición de huevos) concluyeron que el empleo de control biológico retrasaba la reinfección (Arias *et al*., 2012).

Assis *et al*. (2012) dividieron 20 terneros de 6 meses en dos grupos, uno recibió 1 g de micelio de *D. flagrans*/10kg p.v. en pellets de alginato de sodio dos veces por semana durante un año, y el otro se mantuvo como testigo de la infección natural con larvas de *Trichostrongylus* spp. Tras el análisis de los coprocultivos se apreció una reducción significativa de las L3 del 56,7% y del 60,5% en el grupo tratado. Además, la contaminación larvaria se redujo en un 64,5% y un 73,2% en distancias de 0-20 cm y 20-40 cm en las parcelas que aprovechaban los terneros que recibían micelio. Así mismo, Ortiz-Pérez *et al*. (2017) mostraron que *D. flagrans* era eficaz frente NGI (*Strongyloides* spp., *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp. y *Mecistocirru* ssp.) de terneros a los que se administraron pellets con esporas ($2x10^6$/kg p.v.) y que las esporas de *D. flagrans* disminuían las larvas en el pasto.

Para evaluar la eficacia ovicida de *M. circinelloides* sobre huevos de *Trichuris* spp. eliminados por dromedarios en cautividad (Hernández *et al*., 2018a), se pulverizaron las esporas directamente sobre las heces, observándose que las hifas se adherían a la cubierta de los huevos, penetraban e impedían de forma irreversible su desarrollo. El 50% de los huevos dejaron de ser viables después de 30 días de exposición al hongo.

También se ha probado la combinación de esporas de hongos con actividad ovicida y larvicida administrando pellets nutricionales con esporas de *D. flagrans* ($2x10^6$/kg) y de *M. circinelloides* ($2x10^6$/kg) a caballos en prados en pastoreo continuo y rotacional, obteniéndose recuentos de eliminación de huevos de estróngilos por debajo de los 300 hpg (Hernández *et al*., 2016, 2018). Palomero *et al*. (2020)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

administraron esporas de ambos hongos durante tres años y medio a rumiantes mantenidos en un parque zoológico e infectados con nematodos gastrointestinales y comprobaron que la necesidad de desparasitación química se espaciaba hasta 8 meses en los grupos Caprinae, Bovinae y Reduncinae y 24 meses en el grupo Antilopinae.

Diversos estudios muestran que *M. circinelloides* penetra la cubierta de huevos de trematodos como *F. hepatica* o *C. daubneyi*. Cortiñas *et al*. (2015) pulverizaron esporas de *M. circinelloides* ($1x10^6$) directamente sobre heces de terneros infectados con huevos de *F. hepatica* y colocadas en recipientes bajo las condiciones de temperatura y humedad ambientales, y comprobaron que la viabilidad de los huevos se reducía u 74 % respecto a un grupo de heces testigo. En un trabajo posterior, suministraron a 16 terneros 6 kg de una premezcla alimentaria diaria con $2x10^6$ esporas/kg y obtuvieron que el 67 % de los huevos de *F. hepatica* perdían la viabilidad. Resultados similares aportan los trabajos de Arroyo-Balán *et al*. (2015), que al colocar en placas *Petri* huevos de *C. daubneyi* y esporas de *M. circinelloides*, comprobaron que transcurridos 50 días el porcentaje de huevos sin desarrollar era del 40%, 27% estaban rotos o deteriorados y solamente el 33% permanecían viables. Estos mismos autores enfrentaron pellets con esporas a huevos de *F. hepatica* y determinaron una pérdida de viabilidad de más del 50% (Arroyo-Balán *et al*., 2016). Al realizar estos estudios en medio líquido observaron que la viabilidad disminuía a la mitad después de 28 días (Arroyo-Balán *et al*., 2017).

Formulaciones comerciales

Uno de los retos del control biológico con hongos parasiticidas es la posibilidad de la producción a gran escala que permita su utilización real además de conseguir una regularización legal. A lo largo de estos años han surgido diversas opciones para poner en contacto los hongos con los parásitos en el medio externo. Los primeros estudios se realizaron administrando directamente las esporas en el alimento de los animales es decir la vía oral, este tipo de formulación es la más adecuada ya que, al salir con las heces, las esporas entran en contacto

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

directo con las formas parasitarias. Se emplearon premezclas alimentarias, por ejemplo, suspensiones de clamidosporas en agua o directamente el micelio junto al alimento (Carvalho *et al*., 2009; Cortiñas *et al*., 2015), que dieron buenos resultados en diferentes équidos (Arias *et al.*, 2013a) y muflones en cautividad (Cazapal-Monteiro *et al*., 2014). Con la incorporación de hongos como *D. flagrans* o *Arthrobotrys robusta* a pellets de alginato también se han obtenido buenos resultados. Arias *et al*. (2015) y Arroyo-Balán *et al*. (2016) demostraron que las esporas resisten el proceso de pelletización al comprobar la viabilidad y actividad de las esporas transcurridos seis meses de la fabricación industrial del pienso. Hernández *et al*. (2016, 2018), comprobaron que resultaba sumamente eficaz para espaciar los tratamientos antihelmínticos, la suplementación de caballos en pastoreo con concentrado elaborado con esporas de hongos con actividad ovicida y larvicida

Los bloques minerales son otra posible forma de administración oral con la que se obtienen dos ventajas, el suplemento nutricional y la administración continua de los hongos (Ojeda-Robertos *et al*., 2009; Sagües *et al*., 2014). Los estudios empleando esta formulación realizados en ovinos infectados con nematodos gastrointestinales demostraron una muy buena eficacia, si bien estos autores señalan que la desventaja que ofrece este sistema es la variación en el consumo entre los animales. Inspirándose en los bolos de liberación controlada intraruminales, Waller *et al*. (2001a) fabricaron bolos de *D. flagrans* observando que liberaban esporas hasta 23 días después de su colocación, por lo que concluyeron que podía llegar a ser una forma de administración eficaz si se lograba aumentar a 90 días su efectividad.

Se ha estudiado la posibilidad de pulverizar las esporas directamente sobre el suelo, para ello se cultivan en medio líquido que se aplica sobre el terreno para que los hongos entren en contacto directo con las formas parasitarias. Si bien es verdad que con el cultivo en medio líquido la producción es más económica y hay menos posibilidades de contaminación con ácaros, con este método se pierden gran cantidad de esporas y no puede abarcar grandes superficies (Hernández-Malagón, 2019).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Finalmente es importante destacar que en la actualidad existen en plantas distintas formulaciones de esporas para el control biológico como son Bio-Nematon®, T. Stanes & Company Ltd., India a base de *Paecilomyces penetrans* y *Purpureocillium lilacimum* (Khan *et al*., 2012; Mukhtar *et al*., 2013a). Recientemente un grupo australiano ha conseguido comercializar un producto a base de *D. flagrans* denominado BioWorma® en Australia y Estados Unidos tras una serie de ensayos con resultados positivos (Healey *et al*., 2018). Finalmente, en Brasil se ha registrado el product Bioverm® (Araújo *et al*., 2021), a base de harina de arroz que vehicula clamidosporas de *D. flagrans*.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2. UNIDAD TEMÁTICA

En las últimas décadas, los sistemas de producción de alimentos de origen animal tienden a que todo el proceso siga una gestión que contemple el bienestar animal, que sea respetuosa con el medio ambiente y que el uso de productos químicos sea el imprescindible. El pastoreo en extensivo contribuye al desarrollo de la ganadería ecológica, pero implica un riesgo de infección por diferentes parásitos gastrointestinales cuyas fases infectantes se desarrollan en el medio a partir de ooquistes o huevos que eliminan en las heces los animales infectados. Cuando las infecciones son intensas, lo que sucede, sobre todo, en los animales que salen por primera vez al pasto, disminuye la productividad lo que ocasiona importantes pérdidas económicas e incluso una elevada tasa de mortalidad. Por este motivo, los animales se desparasitan, pero no se tiene en cuenta que la actuación sobre las fases de vida libre resulta imprescindible para evitar la reinfección.

Desde hace más de diez años el grupo de investigación COPAR (GI-2120) de la USC viene utilizando hongos saprófitos con actividad parasiticida para destruir formas parasitarias que se encuentran en el ambiente. Teniendo en cuenta resultados previos de pruebas realizadas en otras especies animales, se diseñó el presente trabajo, para el control biológico de helmintos, en dos explotaciones ganaderas de aptitud láctea, la primera de ganado vacuno y la segunda de ovejas.

El **primer ensayo** se desarrolló en una granja de vacuno en la que se implementó un programa de control integrado (Fig. 16), según el cual durante dos años, las vacas siguieron un régimen de pastoreo en rotación de **líderes** (vacas en lactación) y **seguidoras** (vacas en secado y novillas) con suplementación diaria de pellets nutricionales. Al

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

principio del estudio eliminaban huevos de *C. daubneyi* y NGI, por lo que en el periodo de secado se desparasitaron las vacas con closantel y albendazol. Durante un año se estudió el efecto del pastoreo rotacional sobre la intensidad de eliminación de huevos de helmintos y en el segundo año, además de seguir con la rotación, el grupo *líder* recibió pellets comerciales, y las *seguidoras* consumieron pellets con una combinación de dos especies de hongos parasiticidas, los cuales fueron fabricados gracias a la colaboración de la empresa NANFOR dedicada a la producción de pienso para animales.

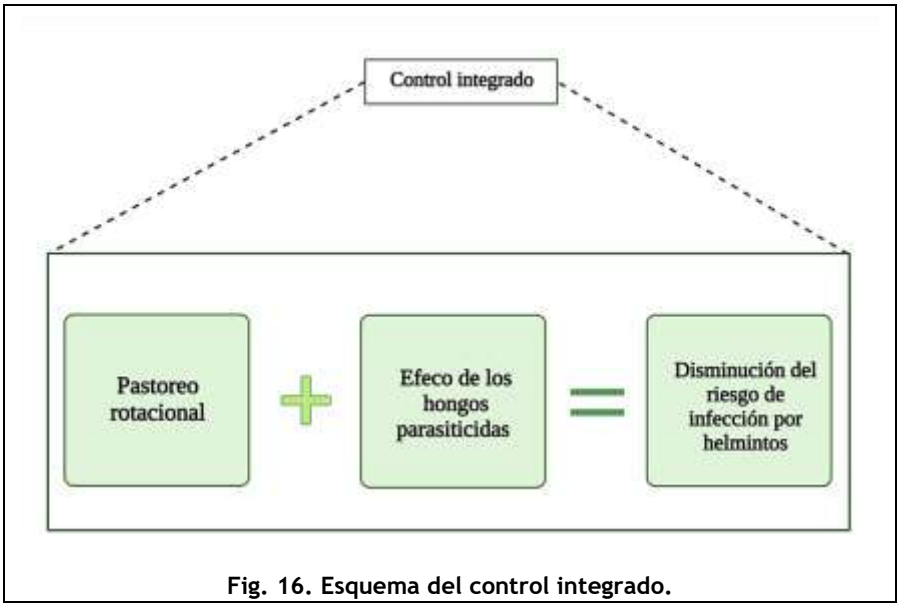


Fig. 16. Esquema del control integrado.

Además de la eficacia de las estrategias empleadas para el control parasitario, un requisito fundamental consiste en demostrar que son inocuas para las especies animales diana. Con este objeto, se diseñó un **segundo ensayo**, que se llevó a cabo en la misma explotación de vacuno de leche. A lo largo de tres años se emplearon dos grupos de novillas. En los dos primeros años un grupo recibió pellets fabricados en una instalación comercial con esporas de *D. flagrans* y *M. circinelloides* y el otro concentrado sin esporas. El último año ambos grupos recibieron pellets sin mezcla. Para valorar si los hongos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

producen daños en los animales que los ingieren, se observó mensualmente la posible presencia de alteraciones a nivel digestivo, reproductivo, respiratorio y cutáneo. Asimismo, mensualmente se tomaron muestras de sangre para estudiar las variaciones en los parámetros hemáticos de las series roja y blanca, y también de heces para monitorizar la eliminación de formas parasitarias. Finalmente se procedió a la necropsia de tres novillas tras dos años ingiriendo esporas, y de otras cuatro al final del ensayo. De esta forma se pudo valorar si se habían producido daños en los distintos órganos y tejidos.

En el transcurso de los ensayos anteriores, tuvo lugar una reunión en el Ministerio de Economía y Competitividad (Madrid, España), entre investigador@s dedicad@s a alternativas al empleo de tratamientos químicos (agricultura, ganadería) y responsables de empresas o entidades que desarrollaban actividades agropecuarias con una clara orientación hacia la sostenibilidad e incluso lo *ecológico*. Fruto de este encuentro, surgió la posibilidad de aplicar parte del conocimiento adquirido al control parasitario de ovinos de leche en pastoreo. Este **tercer ensayo** se realizó en colaboración con una asociación de fomento de la agricultura y ganadería ecológica en Gipuzkoa, **Biolur**, a través de su responsable veterinaria, involucrando a una granja de ganado ovino (raza autóctona Latxa) de producción láctea de Azpeitia (País Vasco). En esta Comunidad Autónoma existen numerosas explotaciones de pequeños rumiantes en ecológico, debido a que la gran cantidad de pastos de montaña disponibles garantiza su alimentación, y el resultado final son alimentos de características organolépticas altamente satisfactorias para un sector de consumidores, lo que supone un valor añadido. También es importante tener en cuenta que las condiciones climáticas son muy similares a las de Galicia (donde se realizaron los estudios previos), lo que permite comparar los estudios de control integrado de las parasitosis en ganado bovino y ovino combinando desparasitación con antihelmínticos, rotación de pastos y control biológico.

En base a que los análisis previos revelaron fundamentalmente la presencia de infección por estrongílidos en corderos que salen por primera vez al pasto, en este caso el planteamiento consistió en el

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

diseño de una estrategia que integrase la desparasitación y la prevención de infección, mediante la administración de esporas de hongos que mostraron actividad helmintófaga.

En base a la imposibilidad de fabricar concentrado alimentario con clamidosporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*, en este caso se ideó su vehiculación mediante la inmersión de granos de cereales en medio líquido en el que previamente se habían cultivado ambas especies de antagonistas, y posterior administración junto con pellets nutricionales sin esporas. Se consideró otro lote de corderas sin esporas como testigo. Al inicio del estudio, todos los individuos se desparasitaron con antihelmínticos disponibles comercialmente. Este diseño se aplicó dos años (cuatro lotes de corderas en total), y el efecto se determinó mediante la realización de análisis coprológicos, toma y análisis de muestras sanguíneas y evaluación visual de las corderas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. OBJETIVOS

El control de ciertas helmintosis en rumiantes en semi-extensivo adolece de medidas preventivas que ayuden a reducir la aplicación frecuente de tratamientos antiparasitarios convencionales, que no se pueden administrar salvo en periodos no productivos (secado). Es necesario destacar que en animales en ecológico el tratamiento farmacológico está limitado a aquellas situaciones extremas en las que peligra su salud, aunque en ciertas comunidades autónomas es obligatorio si se trata de especies autóctonas.

Por todo ello, resulta necesario disponer de alternativas prácticas y eficaces que contribuyan a resolver estas situaciones, para lo cual se diseñó un estudio, dividido en tres experimentos, con el fin de lograr los siguientes OBJETIVOS:

1. Estudiar el efecto de la combinación de hongos con efecto ovicida y larvicida en la prevención de infección por helmintos en rumiantes en pastoreo. (Publicaciones nº 1 y 3).

2. Analizar el efecto de una estrategia de control integrado de helmintos, basada en tratamiento farmacológico eficaz, rotación de pastos y prevención de infección mediante hongos parasiticidas, en ganado vacuno de leche (Publicación nº 1).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. Confirmar la inocuidad de la ingestión de esporas de *Duddingtonia flagrans* y *Mucor circinelloides* en novillas en pastoreo. (Publicación nº 2).

4. Determinar la influencia de la administración de una mezcla de *D. flagrans* y *M. circinelloides* sobre el riesgo de infección por tricostrongílidos en corderas en primer año de pastoreo (Publicación nº 3).

5. Evaluar la idoneidad de diferentes formulaciones alimentarias para la administración de hongos parasiticidas a rumiantes en semi-extensivo (Publicaciones nº 1 y 3).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4. METODOLOGÍA GENERAL

Esta sección contiene los materiales y métodos empleados para la realización de la presente Tesis Doctoral.

- **Granjas y manejo de los animales**

Los dos primeros estudios se llevaron a cabo en una granja de ganado vacuno, de raza frisona (Fig. 17), localizada en Galegos (Riotorto, Lugo, España 43º 15' 43,9'' N-7º12' 36,0'' W). Está situada en una zona agrícola y montañosa (250-734 m de altitud) y clima de tipo oceánico (***Cfc***) (Kottek *et al*., 2010). Las vacas siguen un sistema de pastoreo en extensivo durante el día y permanecen estabuladas la noche. Se emplea un sistema de rotación basado en el modelo de líderes y seguidores, en primer lugar, salen al pasto aquellos animales con mayores necesidades nutritivas (vacas en lactación) y cuatro días después las vacas en secado y novillas con menores requerimientos nutricionales.



Fig. 17. Novillas en una ganadería de Galegos (Riotorto, Lugo).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Para permitir el crecimiento de la hierba, el ganado no vuelve al primer pasto antes de los dos meses (*periodo de descanso*). Se proporciona heno como suplemento entre diciembre y febrero. Además, todos los animales reciben diariamente 2,5 kg de pellets de concentrado y ensilado de maíz distribuidos mañana y noche. Cada mes se secan cuatro vacas, que reciben tratamiento antiparasitario y se manejan junto a las seguidoras hasta el momento del parto (aproximadamente dos meses después). Los partos ocurren durante todo el año y los terneros se separan de la madre a los pocos días de nacer, siendo criados al aire libre hasta su destete; las novillas permanecen en la granja como reemplazo.

El **tercer estudio** se realizó en una granja ecológica de ganado ovino denominada *Sakona etxalde ekologikoa* (Fig. 18), localizada en una zona montañosa (99-734 m de altitud) de Azpeitia (Gipuzkoa) (43º 11’ 13,5’’ N 2º 16’ 11,2’’ W). Esta zona se encuentra bajo un clima templado, húmedo y oceánico (***Cfc***) según la clasificación de Kottek (2010). Las principales actividades de Sakona son el cultivo ecológico de hortalizas y manzanas, para la producción de sidra. Las ovejas se emplean para producir leche que se comercializa directamente o para la fabricación del queso de denominación de origen “Ideazabal”. Los animales se mantienen en pastoreo rotacional, durante 15 días se alimentan en un prado, y se observan 45 días de reposo (dos meses en total). Además, las corderas que salen al pasto por primera vez reciben un aporte diario de 200 g de concentrado.



Fig. 18. Corderas en granja Sakona (Azpeitia, Gipuzkoa).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- **Diseño experimental**

A lo largo de dos años se realizaron dos ensayos. En primer lugar, se quiso valorar el efecto del sistema de pastoreo lideres/seguidoras y el segundo año se buscó el efecto del mismo tipo de pastoreo junto a la ingestión de esporas parasiticidas. Cada año se emplearon dos grupos, uno de diez vacas en lactación (4-6 años) y otro de seis novillas (12-14 meses) y dos vacas en secado. Se dispusieron un total de treinta pastos diferentes, que habían sido previamente usadas durante más de siete años, y se dividieron en dos lotes de 15. El sistema de líderes y seguidoras se basa en el pastoreo durante cuatro días de un área por los animales con mayores necesidades nutricionales (líderes) seguido de aquellos con menores requerimientos (seguidoras) (Fig. 19). El periodo en el cual el primer grupo vuelve al primer pasto es de dos meses, lo cual se denomina periodo de descanso. Es importante señalar que los pastos empleados nunca fueron compartidos por los distintos grupos de animales. Al inicio del ensayo se tomaron muestras de heces detectando que las vacas y novillas eliminaban huevos de *C. daubneyi* y NGI.

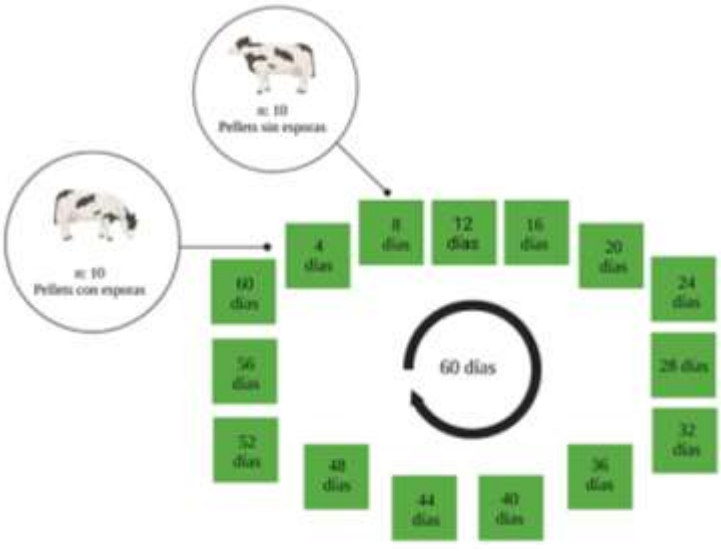


Fig. 19. Diseño experimental del modelo lideres/seguidoras junto al empleo de hongo.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ensayo nº1:

- **Líderes:** diez vacas en lactación, que pastoreaban durante cuatro días tras los cuales se trasladaban a un nuevo pasto. Recibían diariamente un suplemento de pellets. Cada mes, se secaban dos vacas, se desparasitaban y se unían al grupo de las seguidoras hasta el momento del parto.
- **Seguidoras:** seis novillas y 2 vacas en secado, que aprovechaban cuatro días después, el pasto empleado por el grupo líder. Estos animales fueron desparasitados únicamente al inicio del ensayo con closantel VO (10 mg/kg p.v.) ENDOEX®, SP Veterinaria, España y albendazol VO (7,5 mg/kg p.v.) ALBENDEX®, SP Veterinaria, España. Al igual que las seguidoras, recibieron pellets a diario.

Ensayo nº2:

- **Líderes:** diez vacas en lactación, que pastoreaban durante cuatro días tras los cuales se trasladaban a un nuevo pasto. Recibían diariamente un suplemento de pellets. Cada mes, se secaban dos vacas, que se desparasitaban y se unían al grupo de las seguidoras hasta el momento del parto. Cada mes, se secaban dos vacas se desparasitaban y se unían al grupo de las seguidoras hasta el momento del parto.
- **Seguidoras:** se dejaba pastorear a seis novillas y dos vacas en secado cuatro días después del grupo líder. Estos animales fueron desparasitados únicamente al inicio del ensayo con closantel VO (10 mg/kg p.v.) ENDOEX®, SP Veterinaria, España y albendazol VO (7,5 mg/kg p.v.) ALBENDEX®, SP Veterinaria, España. Las novillas recibieron diariamente pellets que contenían una mezcla de $3x10^5$ esporas de *M. circinelloides* y $3x10^5$ esporas de *D. flagrans*/ kg de pellets. En cuanto a las vacas en secado solo recibían pellets sin ningún tipo de esporas.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Se emplearon novillas de la granja de Galegos (Riotorto), para la realización de una nueva investigación sobre la inocuidad de los hongos parasiticidas. Durante tres años se usaron 14 novillas (12-14 meses) las cuales se dividieron en dos grupos de siete. Al inicio del estudio se analizaron las heces mediante coprologías cuyos resultados mostraron que los huevos eliminados correspondían a *C. daubneyi* y NGI. Además se tomaron muestras de sangre mensualmente de todos los animales. Antes de iniciar el estudio, se procedió a la desparasitación de las 14 novillas con closantel VO (10 mg/kg p.v.) ENDOEX®, SP Veterinaria, España y albendazol VO (7,5 mg/kg p.v.) ALBENDEX®, SP Veterinaria, España.

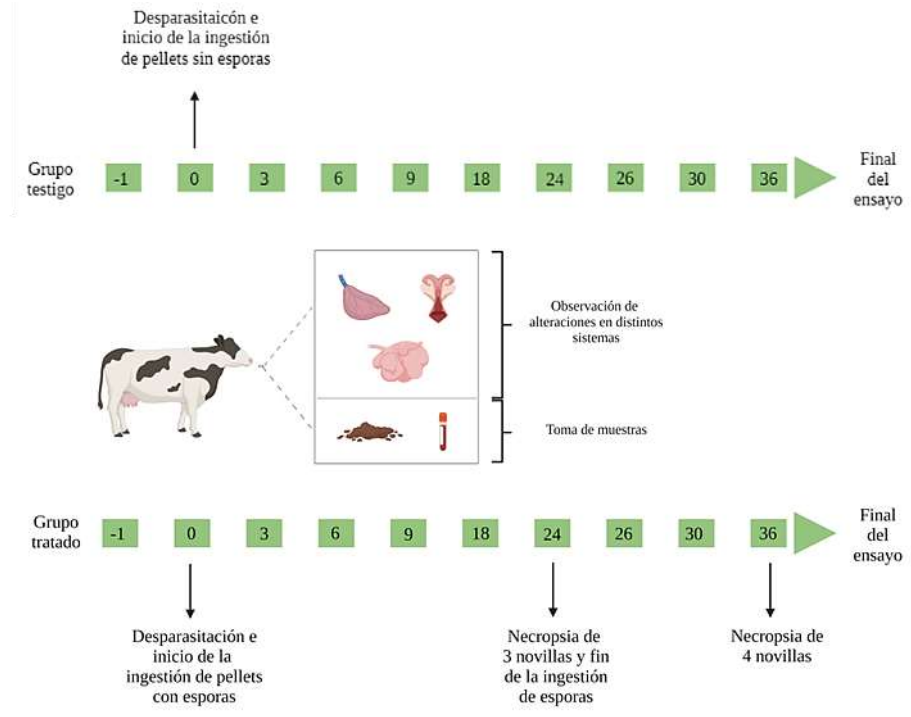


Fig. 20. Diseño experimental del estudio sobre la inocuidad de los hongos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Durante los dos primeros años un grupo (testigo) recibía pellets a diario sin ningún tipo de añadido, en cuanto al otro grupo (tratado) se le administraba pellets que contenían una mezcla de $3x10^5$ esporas de *M. circinelloides* y $3x10^5$ esporas de *D. flagrans*/kg de pellets. El último año, ambos grupos recibieron pellets sin hongos parasiticidas. Se tomaron mensualmente muestras de sangre y heces, y se observó cualquier tipo de alteración del sistema digestivo, respiratorio o reproductivo en ambos grupos. Al cabo de 24 meses se procedió a la necropsia de 3 novillas de grupo tratado y a otras cuatro a los 36 meses del inicio del ensayo (Fig. 20).

El **tercer estudio** se realizó durante cinco meses durante dos años consecutivos. Se emplearon un total de 32 corderas (cinco meses) pertenecientes a la raza autóctona "Latxa". Al inicio de cada ensayo se analizaron las heces cuyos resultados demostraron que en ambos años se eliminaban huevos de NGI. Un tratamiento antihelmitnco a base de albenzol VO (7,5 mg/kg p.v. ALBENDEX 20®, SP Veterinaria, España) fue realizado el primer año y otro mediante ivermerctina subcutánea (SC) (0,2 mg/kg p.v. Noromectin 10®, Karizoo, España) al segundo año. El objetivo de esta rotación de las familias de fármacos fue evitar las resistencias antihelmínticas.

Se formaron dos grupos de ocho corderas, las cuales se mantuvieron bajo un régimen de pastoreo rotacional caracterizado por 15 días de pastoreo y 45 días de reposo completando así un ciclo de 60 días. El primer grupo (tratado) recibía tres veces por semana (martes, jueves y sábado) 200 g/animal de una formulación que contenía una cantidad de 10^6 esporas de *M. circinelloides* y 10^6 esporas de *D. flagrans* mientras que el otro (testigo) se le administraba pienso sin ninguna mezcla (Fig. 21). Durante todos los meses, desde septiembre a mayo, se tomaron muestras de heces y sangre de ambos grupos. Cada año se emplearon un total de 10 praderas de 1 ha las cuales se dividieron en dos lotes, en los cuales pastaban ambos grupos sin posibilidad de compartir los pastos. Una vez finalizado el estudio, a

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

partir de junio, las corderas se manejaban conjuntamente con las ovejas y los carneros.

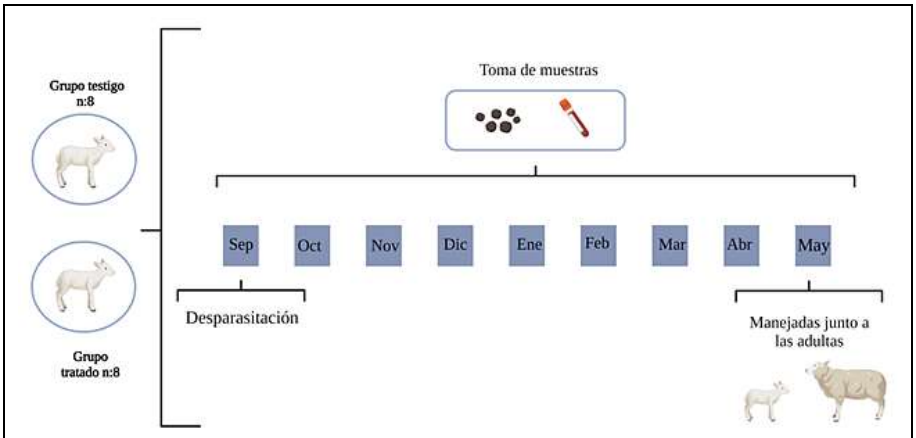


Fig. 21. Diseño experimental del estudio de control integrado en ovinos.

- **Eficacia del tratamiento**

Una vez realizada la desparasitación de los animales fue necesario demostrar la eficacia de esta. Para ello se recogieron muestras de heces de cada animal los días 0 y 14 post desparasitación realizandose las técnicas de flotación y sedimentación. Para valorar la eficacia del tratamiento se emplearon fórmulas que permiten obtener la reducción del recuento de huevos (FECR), el número de animales positivos (CPCR) y la reducción de los análisis individuales coprológicos positivos (IPCR) (Arias *et al*., 2013b).

- FECR (%) = [1 - (HPG post-tratamiento/HPG pre-tratamiento) x 100]
- CPCR (%) = [1 - (número de animales positivos post-tratamiento/animales positivos pre-tratamiento) x 100]
- IPCR (%) = [1 - (número de animales positivos día 14/ número de animales positivos día 0)] x100

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

- **Hongos parasiticidas**

A partir de muestras de heces de animales y suelo donde pastoreaban animales (Galicia, España) se aislaron los hongos saprofitos filamentosos *M. circinelloides* (CECT 20824) y *D. flagrans* (CECT 20823) que se depositaron en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia, España). Con el objetivo de multiplicar la cantidad de esporas, en el laboratorio del Grupo de Investigación COPAR (GI-2120; USC, España) los hongos fueron aislados colocándolos en placas Petri con Agar Marino (Fig. 22). Para ello se mezcló agua destilada (H2O) junto al Agar Marino y trigo (AMT). Posteriormente se autoclavó (16 min/121ºC) para obtener un medio estéril en el que solo pudieran crecer los hongos.

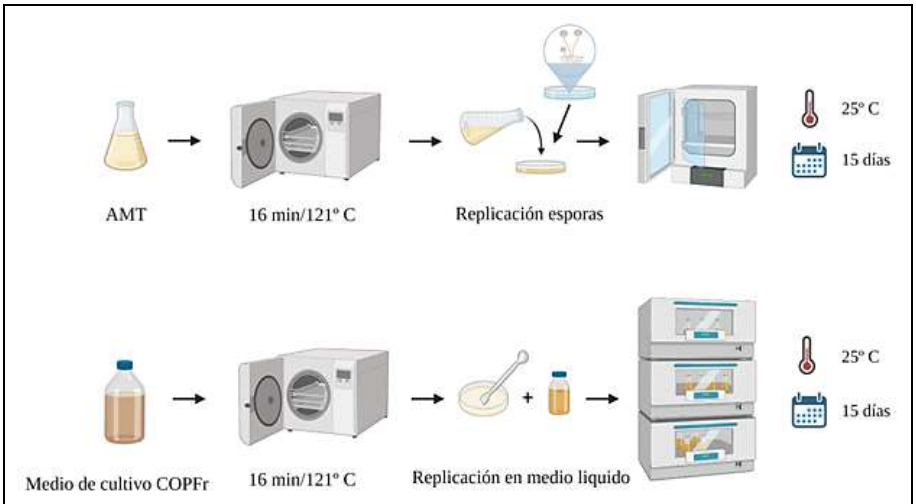


Fig. 22. Cultivo de esporas en medio sólido y líquido.

A continuación, el medio fue añadido en placas Petri, en el cual una vez solidificado se dispuso un inserto (7x7 mm) de *D. flagrans* o *M. circinelloides*. Las placas *Petri* se colocaron en la oscuridad, a 25ºC durante 15 días tiempo necesario para obtener un crecimiento óptimo de las esporas. El medio líquido COPFr (patente COPAR, Nr PCT/ES2014/070110), se preparó con H_2O y trigo posteriormente autoclavado (16 min/121ºC). Una vez enfriado se añadieron 250 mL

en botellas previamente esterilizadas introduciéndose en cada una de ellas un inserto (7x7 mm) del hongo (Fig. 22). Finalmente se dejó crecer los hongos en medio liquido durante 15 días a 25ºC (Hernández *et al*., 2017; Viña *et a*l., 2020).

- **Fabricación de formulaciones comerciales**

En estudios previos se demostró que los hongos sobrevivían al proceso de fabricación de pellets (Hernández *et al*., 2016). Esto ha permitido su uso como formulación comercial para poder administrar de forma fácil los hongos a los animales. Los pellets fueron producidos en la fábrica NANFOR en Begonte (Lugo, España). Durante la fase de mezcla de los componentes (Fig. 23) se añadió una cantidad de $3x10^5$clamidoesoras de *M. circinelloides* y $3x10^5$ de *D. flagrans* / kg. Una vez mezclado se inyectó vapor de agua a 75º C durante 15 segundos y se pasó por el pelletizador. El producto final fue enfriado, secado, empaquetado en sacos de 40 kg y almacenado durante un período mínimo de tres meses a temperatura ambiente protegido de la luz (Arroyo *et al*., 2016; Hernández *et al*., 2018a).

Ingredientes	Análisis
•Maíz •Harina de soja •Cebada •Harina de girasol •Cáscaras de soja •Harina de semillas de colza •Carbonato de calcio •Melaza de caña de azúcar •Cloruro de sodio	•Proteína bruta (20,5%) •Fibra (9,3%) •Cenizas (7,9%) •Grasa bruta (2,3%) •Calcio (1,6%) •Fósforo (0,55%) •Magnesio (0,54%) •Sodio (0,32%) •Vitamina A (20.000 UI/Kg) •Vitamina D3 (2750 UI/kg) •Vitamina E (45 UI/kg)

Fig. 23. Ingredientes y análisis de la materia prima de los pellets.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Otra posibilidad es la fabricación de dichas formulaciones directamente en el laboratorio. Para ello se procedió a mezclar 800 mL de medio liquido (COPFr), que contenía 10^4 clamidosporas de *M. circinelloides* y 10^4 clamidosporas de *D. flagrans*/mL junto a 800 g de cereal compuesto por trigo, cebada y maíz. A continuación se mantuvieron en un secador de alimentos a 42ºC durante seis horas. El producto final se mezcló con 800 g de pellets nutricionales.

- **Análisis coprológicos**

Se recogieron muestras de heces directamente del recto de los rumiantes en los distintos ensayos (Fig. 24), que se analizaron mediante diferentes técnicas.





Fig. 24. Toma de heces y de sangre de las corderas.

- Flotación: se toma una muestra de 3-5 g de heces y se homogeniza con agua hasta 45 g. La mezcla se pasa a través de un filtro de 150 µm, que se recoge en dos tubos de 12 mL. Después de centrifugar 10 min a 1500 rpm, se retiar el sobrenadante y se añaden 10 mL de solución salina saturada (NaCl) con una densidad de 1,2. En una cámara de McMaster, que permite el recuento cuantitativo de huevos de parásitos, se coloca la mezcla y se observa con el objetivo de 10X del microscopio (Leica DM2500) (MAFF, 1986). Los resultados se expresaron en hpg (huevos por gramo de heces).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Sedimentación: se mezclan 4 g de heces con agua *ad libitum*, se homogeneiza y se filtra por 150 µm. A continuación de añade a una copa de sedimentación de 1L y se deja sedimentar durante 20 minutos. Se retira el sobrenadante y se repite el proceso dos veces más en copas de 500 mL y 100 mL respectivamente. Finalmente se homogeniza el sedimento en una copa de 50 mL y se añade a una cámara de McMaster empleando el microscopio, objetivo de 10 (Leica DM2500). Los resultados se expresaron en hpg.
- Identificación de L3: para identificar el género de los parásitos que infectan a los animales en los distintos estudios, se colocaron 5 g de heces de cada individuo en recipientes de plástico. Durante un periodo aproximado de 17 días, se dejaron los recipientes a una temperatura media de 25ºC humedeciéndolos cada tres días con 1 mL de agua destilada para recrear las condiciones del medio externo. Una vez transcurrido este tiempo se recolectaron las L3 mediante el método de Baermann. Para la identificación se empleroan las llaves morfológicas de la MAFF (1986) y de vanWyk y Mayhew (2013).
- Método de Baermann: permite la obtención de larvas de estadio 3 (L3) para su recuento e identificación. Se pesan 10 g de heces y se colocan en una copa de Baermann que contiene un filtro (0,190 mm) añadiendo agua hasta cubrir la muestra. Tras 12 horas se retira el tubo donde las larvas han migrado y se centrifuga durante 5 minutos a 1000 rpm. Se retira el sobrenadante dejando 2 mL y se añade a la cámara de Favatti visualizándolo bajo microscopio con el objetivo de 10X (Leica DM2500) (Salvatela y Eirale, 1996).

- **Análisis sanguíneos**

Las muestras de sangre se recogieron directamente de la vena yugular y se añadieron a tubos sin aditivos (Fig. 24). Posteriormente se analizaron mediante un coulter (Vet Junior® Diatron, España), cuyos valores fisiológicos normales se obtuvieron a partir de las instrucciones del fabricante (Tabla 5).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Célula	Valores fisiológicos
Glóbulos rojos	5-10x10^6 GR/mL
Hemoglobina	8-15 g HGB/dL
Hematocrito	24-46 % HCT
Hemoglobina corpuscular media	8-12 g CHM
Concentración media de hemoglobina corpuscular	32-42 g/dL CMHC
Glóbulos blancos	5-14x10^6GB/mL
Linfocitos	40-47 % linfocitos
Granulocitos	10-63 % granulocitos
Monocitos	0-7 % monocitos

Tabla 5. Parámetros fisiológicos.

- **Examen anatomopatológico**

Se procedió a la contratación de los servicios del Grupo de Investigación GAPAVET, del Laboratorio de Anatomía Patológica de la Universidad de Santiago de Compostela (Lugo, España). Para ello los animales empleados recibieron sedación (xylazina; 0,1 mg Rompun®/kg p.v., Bayer Hispania, España) previa a la eutanasia (0,1 mL T61® /kg p.v., Intervet International GMBH, Alemania). En primer lugar, se realizó un examen externo de los animales antes de proceder a su necropsia. Durante ésta se tomaron muestras de tejido de piel, músculos, sistema respiratorio (tráquea y pulmón), sistema digestivo (hígado y vesícula biliar, abomaso, duodeno, yeyuno, íleo, ciego, colon y recto), corazón, riñones, vejiga glándula mamaria, nervio ciático y linfonodos regionales. Todos los tejidos fueron conservados en formalina 10% durante 24 h. Se recortaron secciones de tejido de 3 µm que fueron teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) y examinados con microscopía óptica. Además, con el objetivo de identificar hongos en los tejidos, se seleccionaron algunas áreas y secciones, que se tiñeron con ácido perIódico de Schiff y Fontana-Mason y con Ziehl-Neelsen.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- **Imágenes**

Las imágenes presentes en la Tesis Doctoral pertenecen al grupo de investigación COPAR y a la doctoranda. Las figuras se han creado empleando el programa BioRender.

- **Análisis estadístico**

Ensayo nº1

Todas las pruebas se realizaron con el paquete estadístico SPSS, versión 21 (IBM SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar que los datos de los recuentos de huevos no se distribuían de forma normal. Como no resultó así ($Z=2.309$, $p=0.031$), y la prueba de Levene mostró que las varianzas no eran homogéneas (estadístico= 4.398, $p = 0.031$), se decidió aplicar el test no paramétrico U de Mann-Whtiney (nivel de significación $p<0.05$).

Los valores de los análisis hematológicos se distribuyeron normalmente, procediéndose a su análisis mediante ANOVA ($p< 0.05$).

Para evaluar el grado de correlación entre los valores de hpg y los parámetros hematológicos, se utilizó la prueba no paramétrica de correlación de rangos de Spearman ($p<0.05$).

Ensayo nº2

La prueba de Kolmogorov-Smirnov demostró que las datos de los parámetros sanguíneos no seguían una distribución normal ($p<0.05$), de modo que se aplicó el test no paramétrico de Friedman, y mediante SPSS para Windows (v. 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.) consideró que existían diferencias significatias si $p<0.05$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ensayo nº3

Todas las pruebas se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 20 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

De acuerdo con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, los datos de eliminación de huevos de trematodos y de NGI no se ajustaban a una distribución normal (Z= 4,672, p= 0,001, y Z= 2,852, p= 0,001, respectivamente). Mediante el test de Levene, se excluyó la homogeneidad de varianzas para la eliminación de huevos de trematodos (Z= 27,241, p= 0,001), y para la de NGI (Z= 30,171, p= 0.001). Las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y "U" de Mann-Whitney se consideraron significativas si $p<0.05$.

Los valores de FECR y CPCR se mostraron como porcentajes y un intervalo de confianza del 95%. La cinética de la eliminación de huevos se representó con las medias y los rangos (definidos como la diferencia entre los valores máximos y mínimos).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5. PUBLICACIONES

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5.1 INTEGRATING THE CONTROL OF HELMINTHS IN DAIRY CATTLE: DEWORMING, ROTATIONAL GRAZING AND NUTRITIONAL PELLETS WITH PARASITICIDE FUNGI.

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401720300182

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.2 SAFETY OF DAILY ADMINISTRATION OF PELLETS CONTAINING PARASITICIDAL FUNGAL SPORES OVER A LONG PERIOD OF TIME IN HEIFERS.

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583157.2021.2008317?journalcode=cbst20

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3 Control of strongyles in first-season grazing ewe lambs by integrating deworming and thrice-weekly administration of parasiticidal fungal spores.

https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1338

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6. DISCUSIÓN

La ganadería ecológica busca garantizar el bienestar de los animales, la protección del medio y la salud del consumidor (García-Romero *et al*., 2005). En los últimos años ha aumentado la superficie dedicada a este fin y para mejorar el bienestar de los animales destinados a la producción se tiende a mantenerlos en pastoreo extensivo o semiextensivo (MAPA, 2018).

Los sistemas de producción de ganado bovino y ovino en ecológico aumentan el riesgo de padecer infecciones parasitarias, debido a la ingestión accidental de formas infectantes presentes en el suelo, junto con el pasto. En el norte de España, el clima húmedo y la temperatura en el verano en torno a los 25º C favorecen el desarrollo y supervivencia de las larvas de nematodos gastrointestinales en el pasto y la presencia de los caracoles, hospedadores intermediarios, de *F. hepatica* o *C. daubneyi* (Arias *et al*., 2010; Painceira, 2012).

Estudios llevados a cabo en Galicia mostraron que hasta un 61 % de las vacas eliminaban huevos de nematodos gastrointestinales y que el porcentaje de positividad del ganado ovino era entre 91-94 % (Morrondo *et al*., 2003; Pedreira *et al*., 2006). También por coprología, Díaz *et al*. (2005) y Pedreira *et al*. (2001b), obtuvieron un 62 % de prevalencia de *F. hepatica* en ganado vacuno y un 30,3 % en ovino.

Estas infecciones provocan pérdidas y afectan en ocasiones al estado sanitario de los animales. Las pérdidas en la producción son difíciles de calcular ya que muchas de estas infecciones pasan desapercibidas para los ganaderos. Destacan la disminución en la ganancia de peso, perdidas en la producción láctea, menor calidad de la canal, y en casos de infecciones intensas, mortalidad o problemas

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

reproductivos (Vercruysse *et al*., 2011; Díaz *et al*., 2014), circunstancias que provocan el encarecimiento de los precios de coste y por lo tanto del producto que llega al consumidor (Ponisio *et al*., 2015; Clark & Tilma, 2017).

Durante mucho tiempo el uso de antihelmínticos fue la única estrategia para luchar frente a las infecciones parasitarias y el abuso de ciertos fármacos dio lugar a la aparición de resistencias parasitarias. En Galicia un estudio llevado a cabo por Díez-Baños *et al*., (2008), demostró en ovino, resistencia de *Teladorsagia* spp. a los bencimidazoles y de *Trichonstrongylus* spp. a la milbemicina. Además, algunos antihelmínticos pueden ser ecotóxicos, sobre organismos que participan en procesos de descomposición de la materia orgánica, como los escarabajos peloteros (Verdú *et al*., 2015; González-Tokman *et al*., 2017). El control de las enfermedades parasitarias basándose en el uso único de antiparasitarios es insuficiente (Gilbert *et al*., 2019; Papadopoulous *et al*., 2012) y resulta necesario adoptar medidas sobre las fases que se encuentran en el medio y que son la causa de las reinfecciones del ganado en pastoreo.

La rotación de los pastos es una herramienta eficaz para el saneamiento de los pastos por la eliminación natural de las formas parasitarias (tiempo). El sistema de líderes y seguidores (*leaders & followers*) consiste en la rotación de praderas de dos grupos de animales con distintas necesidades nutricionales (Mahieu *et al*., 2015). En el primer artículo de esta Tesis Doctoral se reflejan los resultados de un programa para el control integrado de helmintos en ganado lechero a base de desparasitación, pastoreo rotativo y pellets nutricionales con hongos parasiticidas. Treinta y dos bovinos de raza frisona de una explotación con problemas causados por infecciones por *C. daubneyi* y nematodos gastrointestinales se sometieron a una rotación de líderes/seguidores de cuatro días durante dos años. Se administró closantel y albendazol a las vacas adultas durante el periodo de secado, mientras que las novillas se desparasitaron una sola vez al principio de cada ensayo. El tratamiento con closantel fue eficaz contra *C. daubneyi*, y los resultados obtenidos coinciden con los aportados por Rolfe y Boray (1993) y Arias *et al*. (2013b) al administrar salicilanilida frente a este trematodo y disienten con otros

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

estudios que señalan una falta de eficacia o una eficacia reducida (Malrait *et al*., 2015; Nzalawahe *et al*., 2018). La eficacia del albendazol frente a los nematodos gastrointestinales fue similar a la señalada por Demeler *et al*. (2009).

En los regímenes de pastoreo rotacional se dejan períodos de descanso (semanas - meses) para permitir que el pasto vuelva a crecer (Flack, 2016). Se ha observado que este intervalo también podría ser útil para reducir la supervivencia de los estadios infecciosos en el suelo (Chandrawathani *et al*., 2002). En el presente estudio, se mantuvo un periodo de descanso de los pastos de dos meses durante un intervalo de 24 meses, en el que el ganado en producción (líderes: vacas de ordeño) tomaba el mejor alimento, siendo sustituido cuatro días después por individuos con menores necesidades nutricionales (seguidoras: vacas secas y novillas). El primer año en las líderes se observó una ligera reducción del número de huevos de *C. daubneyi*, mientras que el número de huevos en las seguidoras disminuyó notablemente (≥94%), tras completar dos rotaciones (cuatro meses después del tratamiento), y luego entre un tercio y la mitad hasta el final del estudio; los valores de eliminación de huevos de nematodos disminuyeron menos en las líderes, pero se redujeron a la mitad en las seguidoras tras cuatro rotaciones, aunque luego volvieron a aumentar.

A pesar de que Larsson *et al*. (2006) lograron efectos beneficiosos al mantener durante 20 semanas a terneros que salían por primera vez al pasto en praderas alimentadas previamente por vacas, otros estudios registraron un importante incremento de la intensidad de eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales unas semanas después de la segunda rotación, seguido de una lenta disminución (Nogareda *et al*., 2006). En el presente ensayo, el control de parásitos implicó la desparasitación de las novillas sólo al principio del ensayo, mientras que las líderes sólo se desparasitaron cuando se encontraban en período de secado, y a partir de ese momento entraban como seguidoras (junto con las novillas) durante dos meses después del partos y se incorporaban al grupo de líderes. Dado que el tratamiento antihelmíntico no puede administrarse simultáneamente a las líderes, la presencia de ganado infectado (vacas en ordeño) parece mantener la contaminación de los pastizales. Cuatro días más tarde, las seguidoras

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

(desparasitadas con éxito al principio del ensayo) se alimentaron de un pasto poco contaminado con formas parasitarias infectantes ("limpiado" por la acción de las líderes). Hay que destacar que el tiempo transcurrido (cuatro días) es insuficiente para que se complete la fase externa del ciclo a partir de los huevos excretados previamente por las líderes; sin embargo, pueden aparecer nuevos estadios infecciosos después de dos meses, lo que aumenta la posibilidad de que las líderes se infecten al volver al prado. Por lo tanto, este régimen de pastoreo rotacional beneficia a las seguidoras durante las primeras rotaciones. Los huevos o metacercarias de los trematodos pueden permanecer viables hasta varios meses, y las larvas de estrongílidos de uno a tres meses en zonas tropicales o de seis a doce meses en zonas templadas (Torres-Acosta y Hoste, 2008; Moazeni *et al*., 2010). En consecuencia, son necesarios periodos de descanso de los pastos de aproximadamente tres a seis meses para que resulten útiles para disminuir el riesgo de infección (Kumar *et al*., 2013).

Teniendo en cuenta la dificultad y la escasa probabilidad de utilizar periodos de descanso superiores a tres meses, ya que se necesitaría un gran número de zonas de pastoreo y personal para realizar desplazar el ganado, otro enfoque interesante podría consistir en evitar la aparición y supervivencia de estadios infecciosos en las heces y el suelo. En investigaciones previas se ha podido comprobar que las clamidosporas de *M. circinelloides* (ovicida) y *D. flagrans* (larvicida) son capaces de sobrevivir a la fabricación industrial de pellets nutricionales sin perder su actividad biológica, amén de conservar su efecto parasiticida durante más de 6 meses después de la fabricación de los pellets (Arias *et al*., 2015; Arroyo *et al*., 2016). Debido a que las vacas lecheras son normalmente suplementadas con alimento nutricional pelletizado, la segunda prueba del presente estudio, consistió en añadir a la alimentación de un grupo de novillas seguidoras con pellets nutricionales fabricados con una mezcla de clamidosporas (3×10^5/kg pellets) de dos hongos filamentosos saprofitos del suelo, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida) (Hernández *et al*., 2018a). El hecho de que el número de huevos de *C. daubneyi* en las heces de las líderes disminuyera en un 56% después de seis rotaciones y en un 83 % al

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

final del ensayo, junto con su ausencia en las seguidoras después del tratamiento, sugiere que la posibilidad de infección de los caracoles que actúan como hospedadores intermediarios disminuyera significativamente, y como consecuencia no liberaron cercarias y no se formaron metacercarias. Además, aunque las metacercarias son muy resistentes en el medio, su número parece reducirse por la acción del grupo de líderes que se alimentan cuatro días antes que las seguidoras. En cuanto a la infección por nematodos gastrointestinales, al final del ensayo (24 meses), los recuentos fecales disminuyeron un 78% en las líderes y un 85% en las seguidoras, lo que parece indicar una reducción significativa de los niveles de contaminación del pasto. Asimismo, se registraron recuentos ≤100 HPG en las seguidoras hasta el final de la investigación, por lo que se descartó la necesidad de una desparasitación adicional. En estudios previos en ganado en pastoreo al que se le administró micelio del hongo ovicida *Pochonia chlamydosporia* durante 18 meses, lograron reducir un 67% la intensidad de eliminación fecal de *F. hepatica* (Dias *et al*., 2013). Dimander *et al*. (2003) no apreciaron diferencias significativas en los valores de hpg de nematodos gastrointestinales; sin embargo, otros trabajos constataron que el número de larvas de tercer estadio (L3) disminuyeron un 73,8% en las heces de bovinos a los que se les administraban oralmente clamidosporas de *D. flagrans*, y en un 58-73,5% en cebúes en pastoreo (Ortiz Pérez *et al*., 2017; Mendoza de Gives *et al*., 2018). También se ha demostrado que la ingesta diaria de clamidosporas de *D. flagrans* al ganado vacuno reduce la población de larvas de tricostrongílidos en el pasto en un 61-97% (Grønvold *et al*., 1993; Hertzberg *et al*., 2007; Jobim *et al*., 2008). Estudios recientes señalaron una disminución significativa de la contaminación larvaria del pasto después de mantener en el mismo durante 6-8 semanas ganado que recibe clamidosporas de *D. flagrans* (Healey *et al*., 2018).

Los herbívoros en pastoreo están expuestos a infecciones por helmintos y se requieren acciones combinadas frente a las diferentes fases infectamtes, huevos o larvas. En el presente estudio, se registraron reducciones significativas en los valores de eliminación de huevos de *C. daubneyi* y nematodos gastrointestinales al administrar diariamente clamidosporas fúngicas a las novillas pertenecientes al

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

grupo de seguidoras, respecto a las mantenidas únicamente bajo pastoreo rotacional que recibían pellets comerciales sin clamidosporas (prueba uno). Además, también se estableció una disminución significativa en las líderes del segundo ensayo respecto a las del primero. Estos resultados concuerdan con los datos recogidos en caballos en pastoreo rotacional y que recibieron pellets enriquecidos con clamidosporas, en los que los recuentos de huevos de estrónglos se redujeron en dos tercios respecto a los mantenidos bajo pastoreo rotacional únicamente (Hernández *et al*., 2018a).

La mayor parte de las experiencias previas sobre la administración de hongos parasiticidas al ganado se han llevado a cabo con grandes cantidades de clamidosporas de *D. flagrans* para el control de nematodos gastrointestinales, y de clamidosporas de *Pochonia* contra trematodos hepáticos (Assis *et al*., 2012; Dias *et al*., 2013; Ortiz Pérez *et al*., 2017). Las infecciones del ganado suelen ser mixtas y por tanto la presencia de diferentes estadios infecciosos en la hierba requiere una acción combinada. Por ello, en el presente estudio se añadieron clamidosporas de un hongo ovicida y de otra especie larvicida durante la fabricación del pienso pelletizado, confirmándose como una estrategia muy ventajosa para conseguir una formulación muy adecuada para la distribución de los antagonistas en las heces/suelo (Hernández *et al*., 2016). La dosis y la frecuencia de administración de las clamidosporas son puntos críticos a considerar cuando se realizan medidas de control biológico. La administración dos a tres días a la semana, o incluso diaria, garantiza su presencia regular en las heces y la disminución sustancial de los estadios infecciosos de los helmintos (Santurio *et al*., 2009; Dias *et al*., 2013; Mendoza de Gives *et al*., 2018). Esto permite optimizar la producción al disminuir las dosis de clamidosporas, como se ha destacado en los trabajos de Hernández *et al*. (2016, 2018a) y Healey *et al*. (2018). La ausencia de efectos adversos en los bovinos que toman pellets con clamidosporas fúngicas en relación a la piel, el aparato digestivo, el respiratorio o el reproductor, corroboran la inocuidad constatada en investigaciones realizadas entre otras especies herbívoras o incluso carnívoras (Hernández *et al*., 2016, 2018a, b).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Este es el primer estudio de campo a largo plazo, en el que se analiza un programa de control de helmintos que afectan al ganado lechero, que integra la desparasitación eficaz más la prevención de la infección mediante un régimen de pastoreo rotacional de líderes/seguidores, junto con la suplementación con pellets que contienen clamidosporas de los hongos filamentosos saprofitos *M. circinelloides* y *D. flagrans*. Cabe destacar que esta estrategia no se limita a las vacas secas, como ocurre cuando se aplican antihelmínticos, y por lo tanto no es obligatorio un período de supresión que implique la retirada de la leche o la espera para el sacrificio de individuos de aptitud cárnica.

La propagación de hongos en medio acuoso permite la inclusión de las esporas en el proceso de fabricación industrial de pellets. En este caso, se consideraría que el concentrado final es un biocida, que se define como *preparado que contiene una o más sustancias activas o microorganismos cuyo objetivo es destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos*. Los biocidas se encuentran regulados a nivel europeo por la Directiva 98/8/CE del Parlamento Europeo, y del Consejo de 16 de enero de 1998 relativa a la comercialización de biocidas, transpuesta a nuestro ordenamiento jurídico mediante el Real Decreto 1054/2002 de 11 de octubre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas. Obviamente, planteará un riesgo bajo al ser humano, a los animales y al medio ambiente. Con este objetivo, en el segundo artículo se muestra el trabajo realizado para demostrar que la ingestión prolongada de pellets que contenían la mezcla de *M. circinelloides* y *D. flagrans* resultaba inocua para las novillas pertenecientes a la granja del trabajo anterior. Mensualmente se evaluaron los recuentos de glóbulos rojos y blancos. Además, se observó si se producían alteraciones de la actividad digestiva, respiratoria y reproductiva. Se realizó la necropsia a tres novillas que habían consumido esporas durante dos años, y a otras cuatro que las ingirieron durante un año, y permanecieron otro en pastoreo rotacional sin recibir esporas en el concentrado. En el examen *post-mortem* de los animales que habían recibido los pellets con la mezcla de hongos

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

durante dos años se encontraron recuentos bajos de adultos de *C. daubneyi* y de nematodos gastrointestinales (< 10). Se pudieron ver algunas lesiones en el intestino debido a la acción de *C. daubneyi* o *Trichostrongylus* spp. al igual que zonas de fibrosis características de la migración de *D. dentriticum*. En el grupo que solo ingirió esporas durante un año y permaneció otro en pastoreo se encontraron más adultos de *C. daubneyi* y de nematodos gastrointestinales en comparación con el anterior, en ambos se observaron lesiones similares. Las necropsias permitieron determinar que no existían lesiones causadas por los hongos parasiticidas y que, como era de esperar, estos no eran capaces de atravesar la barrera intestinal. No se pudo realizar un examen *post-morten* en el grupo testigo debido a que en el manejo de la granja estos animales se destinan a reposición. A pesar de ello, se concluyó que la ingestión diaria de pellets que contenían esporas de hongos parasiticidas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* durante un periodo de tiempo largo es completamente segura. En necropsias realizadas a corderas que se encontraban en pastoreo y que recibían esporas de *D. flagrans* encontraron una disminución de las infecciones del 20-61% (Gómez-Rincón *et al.*, 2006). Mendoza de Gives *et al*. (2006) comprobaron mediante necropsia que las ovejas que habían recibido esporas de *D. flagrans* durante cinco meses tenían un 56% de menos de adultos de *Ostertagia circumcinta* y un 94% menos de *Nematodirus* spp que las ovejas a las que no se les habían suministrado esporas. Es importante señalar que estas formulaciones comerciales deben ser apetecibles para los animales que las ingieren, es por ello que durante los tres años que duró el estudio se observó si se producía disminución de la ingesta, y se comprobó que en ningún momento el ganado rechazó los pellets.

El análisis de los parámetros hemáticos puede aportar información útil sobre el estado de salud de los animales. La disminución del recuento de glóbulos rojos y del hematocrito puede indicar anemia provocada por una gran carga parasitaria (Castillo, 1994). De la misma forma, la tasa de hemoglobina se puede ver afectada (Gómez-Piquer *et al*., 1980). En los animales que formaron parte de este estudio y que como se ha mencionado eran los mismos del artículo primero (eliminaban huevos de *C. daubneyi* y de

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

nematodos gastrointestinales), estos valores se midieron un mes antes de recibir el tratamiento antihelmíntico y se comprobó que eran inferiores a los considerados normales.

Durante los dos primeros años se obtuvieron recuentos normales de la serie roja y blanca en el grupo de novillas que recibían esporas y por debajo de los valores fisiológicos en el grupo que recibía pellets comerciales. No se detectaron diferencias entre ambos grupos en el tercer año, con recuentos de glóbulos rojos y hematocrito más bajos de lo normal. En el presente estudio, cuando se administraron pellets sin esporas a todas las novillas (tercer año), no se registraron diferencias entre los dos grupos, los parámetros de sangre de la serie roja se redujeron por debajo de los valores fisiológicos, mientras que los monocitos aumentan por encima de los recuentos normales, lo que llevó a considerar un nivel importante de infección por helmintos (Brito *et al*., 2013; Meradi *et al*., 2016).

Además, no se encontraron estructuras fúngicas ni lesiones relacionadas con la ingesta de hongos, en los tejidos de las vacas que recibía pienso con esporas. Por lo que se concluyó que la ingestión diaria de pellets que contenían esporas de hongos parasiticidas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* durante un periodo de tiempo largo es completamente segura. Es importante destacar que tras numerosos ensayos realizados en los últimos años en perros, vacas y caballos no se ha observado ningún tipo de alteración, ni en los animales que ingerían las esporas ni en las personas implicadas en la replicación y multiplicación en el laboratorio de las mismas (Cortiñas *et al*., 2015; Suárez Sánchez-Andrade, 2017).

El manejo del ganado ovino en régimen de pastoreo asegura su nutrición y bienestar, pero implica riesgo de infección fundamentalmente por nematodos que afectan al tracto gastrointestinal. Los animales parasitados pueden sufrir anemia, pérdida funcional de las glándulas gástricas y atrofia de las vellosidades intestinales, lo que da lugar a una baja productividad, importantes pérdidas económicas e incluso una elevada tasa de mortalidad (Charlier, *et al*., 2014). Con el fin de reducir su impacto, los animales se desparasitan con regularidad, pero, al igual que en el

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ganado bovino, rara vez se tiene en cuenta la actuación sobre las fases del ciclo exógeno de los parásitos. Esta situación da lugar con frecuencia a que sea necesaria aumentar la frecuencia de administración, lo que puede conducir a la aparición de resistencias a los antihelmínticos (Furgasa *et al*., 2018) lo que resultaría una amenaza para la producción animal en un futuro próximo, y parece que la situación se agravará debido a las dificultades económicas que conlleva el desarrollo de nuevos fármacos.

Por ello, y porque los consumidores exigen productos libres de residuos, en las últimas décadas el uso de productos químicos tiende a reducirse o incluso ha desaparecido (Van den Pol-van Dasselaar *et al*., 2020). Las alternativas incluyen estrategias de gestión del pastoreo, como la rotación y el descanso de los pastos, o el pastoreo multiespecie (Kumar *et al*., 2013). Otra opción consiste en destruir los endoparásitos que infectan las ovejas mediante la administración de plantas ricas en taninos o partículas de alambre de óxido de cobre (Hoste, *et al*., 2006; Soli, *et al*., 2010, Burke & Miller, 2020). Otra posibilidad consiste en interferir en el desarrollo de los parásitos en el suelo, impidiendo que las larvas alcancen su fase infectante o reduciendo su presencia. Debido a que la transmisión de estrongílidos se produce a través de la ingestión de larvas de tercer estadio (L3), se han ensayado con éxito ciertos hongos filamentosos saprófitos del suelo capaces de formar trampas en su micelio y capturar estos estadios móviles. *D. flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* y *Arthrobotrys oligospora* son las especies larvicidas más utilizadas en ensayos *in vivo* en todo el mundo (Sagüés *et al*., 2011; Cai *et al*., 2017; Mendoza de-Gives, *et al*., 2018; Canhão-Dias *et al*., 2020). Investigaciones realizadas sobre ovejas parasitadas por nematodos gastrointestinales mostraron una reducción significativa del riesgo de infección cuando a las ovejas se les administraba diariamente clamidosporas de *D. flagrans* durante un periodo de 8 a 12 semanas (Gómez-Rincón *et al*., 2006; Marcelino *et al*., 2016). En la actualidad, hay dos formulaciones basadas en este hongo disponibles en el mercado: BioWorma® y Bioverm® (Healey *et al*., 2018; Braga *et al*., 2020). También se han obtenido buenos resultados en la reducción de los recuentos de huevos en heces y en la mejora del estado de salud

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

entre especies silvestres en cautividad que reciben, semanalmente, durante más de diez meses, una mezcla de clamidosporas de los hongos parasiticidas *M. circinelloides* y *D. flagrans* (Hernández *et al*., 2018; Palomero *et al*., 2020)

El tercer artículo de esta Tesis Doctoral es un estudio *in vivo* que tuvo como objetivo probar esta mezcla de hongos para prevenir la infección por estrongílidos que infectan un rebaño ovino de raza Latxa de una granja del País Vasco dedicada a la ganadería ecológica. Para establecer el estado de salud de los animales, se tomaron muestras de sangre y se valoraron los parámetros hemáticos.

El estudio se desarrolló durante dos años. A principios de septiembre del primer año los corderos se desparasitaron con albendazol y se utilizó ivermectina el segundo año. Ambos tratamientos tuvieron una eficacia superior al 95% y con ambos (FECR > 95%). Al utilizar albendazol cinco de los ocho corderos no eliminaban huevos tras un mes, mientras que con el tratamiento a base de ivermectina la mitad de los corderos fueron negativos por coprología. Estos resultados concuerdan en parte con investigaciones anteriores (Seyoum *et al*., 2017), aunque se ha informado de la existencia de resistencia a estos antihelmínticos (Mondragon *et al*., 2019)

Para evitar la reinfección se administraron clamidosporas tres veces por semana durante el periodo de pastoreo (de septiembre a mayo) a un grupo de corderas en primer año de pastoreo, previamente desparasitadas. En la presente investigación, los corderos mantenidos bajo un sistema de pastoreo rotacional (15 días de alimentación y 45 días de descanso de la pradera) que no recibieron esporas, volvieron a eliminar huevos de estrongílidos un mes después de la desparasitación, y se detectaron recuentos superiores a 300 hpg tres meses después, lo que indica que se reinfectaron muy rápidamente. En las corderas mantenidas con la misma rotación de pastos pero que recibían la mezcla de esporas parasiticidas, los niveles de hpg también aumentaron desde la desparasitación (septiembre) hasta el final del estudio, aunque los recuentos fueron siempre inferiores a 300 hpg. Teniendo en cuenta que el desarrollo de huevo a L3 tarda un mínimo

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

de siete días, parecen necesarios periodos de pastoreo de 3 a 5 días para alcanzar resultados satisfactorios, aunque no todos los trabajos muestran unanimidad (Burke *et al*., 2009; Prasad *et al*., 2019).

Este período de rotación supone un gran inconveniente porque implica aumentar la superficie de pasto, y el trabajo del personal (Hernández *et al*., 2018a; van den Pol-van Dasselaa *et al*. 2020). Las corderas que formaron parte del estudio el segundo año eliminaban más de 600 hpg antes del tratamiento con ivermectina, que tuvo una eficacia superior al 95%. Los datos recogidos en el segundo año fueron similares a los del año anterior, la intensidad de eliminación de huevos disminuyó en un 46% a los tres después del tratamiento en el grupo de corderas que no recibían esporas, mientras que en las corderas a las que se les administraron las clamidosporas, la FECR fue del 70% en el mismo periodo de tiempo y del 69% al final del estudio.

Cuando a las ovejas mantenidas en estabulación o en pastoreo continuo se les proporcionaron clamidosporas de *D. flagrans*, el número de larvas L3 que se desarrollaban en el suelo disminuyó debido a la actividad larvicida de este hongo (Marcelino *et al*., Fontenot *et al*., 2003), lo que confirma que es un procedimiento muy útil para minimizar el riesgo de infección de los animales que pastan. Sin embargo, no se registró ningún efecto sobre la intensidad de eliminación de huevos, por lo que resulta obvio concluir que esta práctica no evita la desparasitación de las ovejas y que ambas medidas resultan muy eficaces para prevenir la reinfección lo que redunda en la salud de los animales. Al desparasitar con levamisol ovejas infectadas por nematodos gastrointestinales, y suministrarles pellets hechos a mano con micelio de *D. flagrans*, se registraron cargas parasitarias bajas y mejores ganancias de peso y valores de hematocrito (Vilela *et al*., 2018).

En la presente investigación, se comprobó el efecto de la infección sobre la salud de los animales mediante la realización de análisis de sangre. En el primer año, los valores de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito en el grupo desparasitado pero que no recibía esporas fueron inferiores a los estándares de referencia, mientras que el número de glóbulos blancos fue similar hasta el final del estudio y estuvo dentro de los estándares de referencia. En los

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

corderos que recibieron las esporas fúngicas, todos los parámetros hemáticos estuvieron dentro de los valores de referencia, con recuentos de parámetros de glóbulos rojos superiores a los del grupo testigo, y los de glóbulos blancos inferiores a los de los controles. Se observaron diferencias significativas entre los dos grupos a lo largo del estudio para los glóbulos rojos, la hemoglobina, el volumen celular medio, la hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular media.

Al principio del segundo año, los valores de los parámetros de los glóbulos rojos tanto en el grupo control como en el que recibía concentrado con esporas, eran inferiores a los recuentos de referencia. Tras el tratamiento antihelmíntico, en las corderas del grupo control, los hematíes aumentaron brevemente y luego disminuyeron a niveles inferiores a los de antes de la desparasitación. Por el contrario, los glóbulos rojos aumentaron en el grupo de corderas que recibían las esporas mientras que las cifras de glóbulos blancos disminuyeron y alcanzaron los recuentos más bajos. Se obtuvieron diferencias significativas en todo el estudio, excepto en la concentración media de hemoglobina corpuscular y en los porcentajes de monocitos. Esto coincidió con los análisis de las vacas en los dos grupos (testigo y tratado), tanto en vacas como en corderas se pudo comprobar que a medida que pasaban los meses estos valores solo se mantenían estables en el grupo que recibía esporas parasiticidas. Estos resultados son similares con los obtenidos en équidos en los que los valores de hematocrito y hemoglobina se mantuvieron en la normalidad (Hernández *et al*., 2016) y en corderos en los que los valores del grupo tratado eran superiores al grupo control (Aguilar-Marcelino *et al*., 2017). Además, en las corderas los recuentos de leucocitos fueron menores que en el grupo testigo. Se ha demostrado que las parasitosis producen un aumento en el número de leucocitos (Meyer *et al*., 1995), por lo que estos datos permitirían concluir que los animales que ingerían esporas estaban menos parasitados.

Cabe señalar que, hasta la fecha, éste es el primer ensayo que incluye la administración de dos hongos con actividad complementaria a ovejas en pastoreo durante un periodo prolongado.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Dado que los herbívoros se infectan al ingerir fases inmóviles (ooquistes, huevos y metacercarias) o móviles (larvas) del parásito cuando pastan, esta actividad complementaria parece muy útil para reducir las posibilidades de infección.

Un aspecto interesante reside en que hongos con actividad parasiticida no sobreviven en el suelo más allá de 2-3 meses (Saumell *et al*., 2016) porque son depredados por otros microorganismos del suelo, a saber, bacterias, ácaros, otros hongos o incluso algunas especies de nematodos. Por lo tanto, es esencial considerar su administración regular para garantizar los resultados esperados. Algunos estudios han demostrado la viabilidad de la elaboración manual o industrial de pellets nutricionales para la administración de diferentes dosis de esporas fúngicas (Marcelino *et al*., 2016; Hernández *et al*., 2016). Otra posibilidad consiste en añadir las esporas durante la fabricación de bloques energéticos (Sagüés *et al*., 2011). Más recientemente, en algunos países se han comercializado dos formulaciones en forma de harina que contienen clamidosporas de *D. flagrans* en un suplemento alimentario muy atractivo y palatable, con notables resultados en la reducción de la contaminación y, en consecuencia, de la infectividad del pasto (Healey *et al*., 2018; Braga *et al*., 2020). En la presente investigación, el cereal molido empapado en un medio líquido que contiene clamidosporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* se reveló muy práctico para la administración de estos hongos parasiticidas a las corderas. Este procedimiento ofrece una estrategia muy eficaz para limitar el riesgo de infección por estrongilidos entre los animales en pastoreo y, en consecuencia, el número de tratamientos necesarios, por lo que constituye una solución sostenible que puede aplicarse para ganadería ecológica.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7. CONCLUSIONES

1. La combinación de dos especies de hongos saprófitos, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida) constituyen una herramienta muy eficaz para frenar el desarrollo de huevos de helmintos hasta sus respectivas formas infectantes.

2. La estratategia que aúna tratamiento farmacológico eficaz, rotación de pastos y administración frecuente de hongos parasiticidas, ofrece un procedimiento muy práctico y eficiente para el control integrado de helmintos en ganado vacuno de leche en pastoreo.

3. La ingestión diaria de esporas de *Duddingtonia flagrans* y *Mucor circinelloides* es totalmente inocua para novillas en pastoreo.

4. Con la fabricación industrial de pellets nutricionales con clamidosporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*, o su pulverización directa sobre alimento pelletizado, se consiguen formulaciones de alta palatabilidad para rumiantes, que contribuyen a asegurar la presencia de hongos parasiticidas en las heces de los animales.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5. En corderas que se mantienen en pastoreo durante el primer año, la toma periódica de una mezcla de *M. circinelloides* y *D. flagrans* constituye un procedimiento muy eficaz para prevenir su infección por nematodos gastrointestinales tricostrongílidos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

8. RESUMEN / RESUMO / SUMMARY / RESUME

En los últimos años, la ganadería ecológica ha ido evolucionando hasta convertirse en un sector de elevada importancia. Este tipo de sistema conlleva que los animales sigan un régimen de pastoreo en el que están expuestos a ciertas infecciones parasitarias debido a la ingestión de formas infectantes que se desarrollan en el suelo. Las helmintosis provocadas por trematodos y nematodos gastrointestinales causan elevadas pérdidas productivas y por lo tanto económicas para el ganadero. En las últimas décadas se ha luchado frente a las parasitosis mediante el uso de tratamientos antihelmínticos cuya eficacia ha sido completamente demostrada. Sin embargo, su uso indiscriminado junto a una dosificación errónea y ausencia de rotación de las distintas familias de antihelmínticos han desembocado en la aparición de cepas de parásitos resistentes en todo el mundo. Asimismo, algunos de los metabolitos de ciertos productos son eliminados en la orina de los animales, heces o a través de la piel, causando daños en la microbiota que se encuentra en el suelo. Es por ello que se ha procedido a la búsqueda de métodos complementarios al tratamiento farmacológico, que permitan el control de las formas presentes en el medio. El control integrado consiste en la curación de los individuos, por ejemplo, con el empleo de antihelmínticos para tratar los animales infectados, acompañado de medidas que permitan disminuir el riesgo de infección, que podría consistir en limitar la contaminación del suelo. En esta línea, ciertas estrategias como la rotación de pastos se presentan como un método eficaz, aunque complicado de aplicar, debido a que se precisa una gran superficie para el pastoreo de los animales. Es por ello que se han buscado alternativas, entre las que destaca en la última década el control biológico. Existen numerosos microorganismos, entre ellos algunos

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

hongos saprófitos con actividad parasiticida de eficacia demostrada en numerosos ensayos. Los hongos pueden tener actividad larvicida como es el caso de *Duddingtonia flagrans* u ovicida como por ejemplo *Mucor circinelloides*. El uso combinado de ambos hongos resulta de gran utilidad, ya que permite actuar frente a un número elevado de estadios infectantes. Se han llevado a cabo numerosos ensayos *in vitro*, pero menos *in vivo* en animales de granja, desconociéndose su eficacia durante periodos prolongados de administración, así como su posible inocuidad.

En el **primer ensayo** del presente estudio, llevado a cabo sobre vacas de aptitud lechera en pastoreo rotacional siguiendo un esquema de líderes y seguidoras, se probó el efecto de la administración diaria de pellets fabricados comercialmente con clamidosporas de los hongos mencionados. El sistema de pastoreo líderes/seguidoras demostró que se limitaba la intensidad de infección por paranfistómidos y tricostrongílidos en el grupo seguidor. Sin embargo, su temprana reinfección y la dificultad de disponer de pastos suficientes para poder emplear este régimen mostraron las dificultades para conseguir que este método sea eficaz. Con la incorporación de una mezcla de clamidosporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* durante la fabricación de alimentación pelletizada, se dispuso de una formulación que hizo posible una importante reducción en el recuento de huevos de *C. daubneyi* y de NGI en ambos grupos, de lo que se infiere la eficacia de este procedimiento para disminuir el riesgo de reinfección de los animales.

Debido a la ausencia de información acerca de la inocuidad de la ingestión diaria de las clamidosporas en especies animales, se realizó un **segundo ensayo** en el que se tomaron muestras de sangre y de heces a novillas en régimen de líderes/seguidoras durante tres años, y que recibieron pellets con clamidosporas. Además, se llevó a cabo el examen diario para descartar efectos adversos sobre el aparato respiratorio, digestivo, reproductor o la piel. No se apreciaron variaciones significativas en los parámetros hemáticos de las novillas que ingirieron las esporas, a diferencia del grupo testigo en el que se detectaron valores inferiores a los fisiológicos (sanos). Tampoco se

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

observaron alteraciones en las novillas a nivel digestivo, reproductivo, respiratorio o cutáneo. Las necropsias de tres novillas después de dos años ingiriendo esporas, y de otras cuatro después de un año sin tomar esporas, no mostraron ninguna evidencia de lesión o trastorno que se pudiese asociar a la infección por hongos, por lo que se concluyó que la ingesta regular de estos hongos no tiene efectos adversos sobre los animales.

Habida cuenta de que en las regiones del norte peninsular concurren condiciones climáticas semejantes, que favorecen la presencia de forraje durante casi todo el año (a excepción de algunos periodos estivales), los regímenes pastoriles se aplican ampliamente para asegurar la alimentación de rumiantes, que en ocasiones permiten obtener alimentos bajo el marchamo *ecológico*. En el **tercer ensayo** se aplicaron algunos de los conocimientos adquiridos previamente, para el control de parásitos en una granja de ovino de leche (raza autóctona Latxa) de Azpeitia (Gipuzkoa, País Vasco). El primer año se emplearon dos grupos de corderas en primer año de pastoreo, uno de los cuales recibió tres veces por semana esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* en una formulación elaborada mediante la inmersión de granos de cereales en medio en el que se cultivaron los hongos, y posterior administración en mezcla con pellets nutricionales comerciales. Ambos grupos se desparasitaron con antihelmínticos al inicio, y se alimentaron bajo un régimen de pastoreo rotacional. El segundo año se siguió el mismo diseño experiemental empleando otros dos grupos diferentes de corderas. Se pudo demostrar la eficacia de los hongos parasiticidas en combinación con la rotación de pastos, ya que a lo largo de los dos años el recuento de huevos en el grupo que recibió las esporas no superó los 250 hpg frente a los 600 hpg del otro grupo. Los parámetros sanguíneos de las corderas suplementadas con hongos parasiticidas se mantuvieron en valores normales, asociando la menor eliminación de huevos con un buen estado de salud que el de las corderas con mayor intensidad de infección. Los resultados obtenidos indican la utilidad de implementar un plan de control integrado que combine rotación de pastos junto al empleo de hongos con actividad parasiticida, para el control de estrongílidos en ovinos de leche.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Los resultados del presente estudio llevan a concluir que la combinación de dos especies de hongos saprófitos, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida) ofrece una herramienta muy eficaz para limitar el riesgo de infección por helmintos en rumiantes. Si además se aplica un tratamiento farmacológico eficaz y se observa la rotación de pastos, se define un programa muy eficaz para el control integrado de helmintos que afectan con regularidad a rumiantes. Es importante destacar la completa inocuidad de la toma diaria de esporas de los hongos mencionados para ganado vacuno en pastoreo. La administración de las esporas se puede llevar a cabo en forma de pellets nutricionales, o de cereales previamente embebidos en las clamidosporas, ambas con elevada palatabilidad.

Nos últimos anos, a gandería ecolóxica ha ido evolucionando ata converterse nun sector de elevada importancia. Este tipo de sistema conleva que os animais sigan un réxime de pastoreo polo que están expostos a padecer infeccións parasitarias debido á inxestión de formas infectantes que se desenvolven no chan. As helmintosis provocadas por trematodos e nematodos gastrointestinales causan elevadas perdas produtivas e por tanto económicas para o gandeiro. Nas últimas décadas loitouse fronte ás parasitosis mediante o uso de tratamentos antihelmínticos cuxa eficacia foi completamente demostrada. Con todo, o seu uso indiscriminado xunto a unha dosaxe errónea e ausencia de rotación das distintas familias de antihelmínticos desembocaron na aparición de cepas de parasitos resistentes en todo o mundo. Así mesmo, algúns dos metabolitos de certos produtos son eliminados nos ouriños dos animais, feces ou a través da pel, causando danos na microbiota que se atopa no chan. É por iso que se procedeu á procura de métodos complementarios ao tratamento farmacolóxico, que permitan o control das formas presentes no medio. O control integrado consiste na curación dos individuos, por exemplo, co emprego de antihelmínticos para tratar os

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

animais infectados, acompañado de medidas que permitan diminuír o risco de infección, que podería consistir en limitar a contaminación do chan. Nesta liña, certas estratexias como a rotación de pastos preséntanse como un método eficaz, aínda que complicado de aplicar, debido a que se precisa unha gran superficie para o pastoreo dos animais. É por iso que se buscaron alternativas, entre as que destaca na última década o control biolóxico. Existen numerosos microorganismos, entre eles algúns fungos saprófitos con actividade parasiticida de eficacia demostrada en numerosos ensaios. Os fungos poden ter actividade larvicida como é o caso de *Duddingtonia flagrans* ou ovicida por exemplo *Mucor circinelloides*. O uso combinado de ambos os fungos resulta de gran utilidade, xa que permite actuar fronte a un número elevado de estadios infectantes. Leváronse a cabo numerosos ensaios *in vitro*, e poucos *in vivo* en animais de granxa, descoñecéndose a súa eficacia durante períodos prolongados de administración, así como a súa posible inocuidade.

No **primeiro ensaio** do presente estudo, levado a cabo sobre vacas de aptitude leiteira en pastoreo rotacional seguindo un esquema de líderes e seguidoras, probouse o efecto da administración diaria de pellets fabricados comercialmente con clamidosporas dos fungos mencionados. O sistema de pastoreo líderes/seguidoras demostrou que se limitaba a intensidade de infección por paranfistómidos e tricostronxílidos no grupo seguidor. Con todo, a súa temperá reinfección e a dificultade de dispoñer de pastos suficientes para poder empregar este réxime mostraron as dificultades para conseguir que este método sexa eficaz. Coa incorporación dunha mestura de clamidosporas de *M. circinelloides* e *D. flagrans* durante a fabricación de alimentación pelletizada, dispúxose dunha formulación que fixo posible unha importante redución no reconto de ovos de *C. daubneyi* e de NGI en ambos os grupos, do que infírese a eficacia deste procedemento para diminuír o risco de reinfección dos animais.

Debido á ausencia de información acerca da inocuidade da inxestión diaria das clamidosporas en especies animais, realizouse un **segundo ensaio** no que se tomaron mostras de sangue e de feces a xatas en réxime de líderes/seguidoras durante tres anos, e que durante

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

dous anos recibiron pellets con clamidosporas. Ademais, levouse a cabo o exame diario para descartar efectos adversos sobre o aparello respiratorio, dixestivo, reprodutor ou a pel. Non se apreciaron variacións significativas nos parámetros hemáticos das xatas que inxeriron as esporas, a diferenza do grupo testemuña no que se detectaron valores inferiores aos fisiolóxicos (sans). Tampouco se observaron alteracións nas xatas a nivel dixestivo, reprodutivo, respiratorio ou cutáneo. As necropsias de tres xatas despois de dous anos inxerindo esporas, e doutras catro despois dun ano sen tomar esporas, non mostraron ningunha evidencia de lesión ou trastorno que se puidese asociar á infección por fungos, polo que se concluíu que a inxesta regular destes fungos non ten efectos adversos sobre os animais.

Tendo en conta de que nas rexións do norte peninsular concorren condicións climáticas semellantes, que favorecen a presenza de forraxe durante case todo o ano (fóra dalgúns períodos estivais), os réximes pastoriles aplícanse amplamente para asegurar a alimentación de ruminantes, que en ocasións permiten obter alimentos baixo o sinal ecolóxico. No **terceiro ensaio** aplicáronse algúns dos coñecementos adquiridos previamente, para o control de parasitos nunha granxa de ovino de leite (raza autóctona Latxa) de Azpeitia (Gipuzkoa, País Vasco). O primeiro ano empregáronse dous grupos de cordeiras en primeiro ano de pastoreo, un dos cales recibiu tres veces por semana esporas de *M. circinelloides* e *D. flagrans* nunha formulación elaborada mediante a inmersión de grans de cereais no medio no que se cultivaron os fungos, e posterior administración en mestura con pellets nutricionais comerciais. Ambos os grupos se desparasitaron con antihelmínticos ao comezo, e alimentáronse baixo un réxime de pastoreo rotacional. O segundo ano seguiuse o mesmo deseño experimental empregando outros dous grupos diferentes de cordeiras. Púidose demostrar a eficacia dos fungos parasiticidas en combinación coa rotación de pastos, xa que ao longo dos dous anos o reconto de ovos no grupo que recibiu as esporas non superou os 250 opg fronte aos 600 opg do outro grupo. Os parámetros sanguíneos das cordeiras suplementadas con fungos parasiticidas mantivéronse en valores normais, asociando a menor eliminación de ovos cun bo

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

estado de saúde que o das cordeiras con maior intensidade de infección. Os resultados obtidos indican a utilidade de implementar un plan de control integrado que combine rotación de pastos xunto ao emprego de fungos con actividade parasiticida, para o control de estronxílidos en ovinos de leite.

Os resultados do presente estudo levan a concluír que a combinación de dúas especies de fungos saprófitos, *M. circinelloides* (ovicida) e *D. flagrans* (larvicida) ofrece unha ferramenta moi eficaz para limitar o risco de infección por helmintos en ruminantes. Se ademais aplícase un tratamento farmacolóxico eficaz e obsérvase a rotación de pastos, defínese un programa moi eficaz para o control integrado de helmintos que afectan con regularidade a ruminantes. É importante subliñar a completa inocuidade da toma diaria de esporas dos fungos mencionados para gando vacún en pastoreo. A administración das esporas pódese levar a cabo en forma de pellets nutricionais, ou de cereais previamente embebidos nas clamidosporas, ámbalas dúas con elevada palatabilidade.

In recent years, organic livestock farming has been evolving to become a highly important sector. This type of system implies that the animals follow a grazing regime, so they are exposed to a higher risk of suffering parasitic infections due to the ingestion of infectious forms that develop in the farm. Helminth infections caused by trematodes and gastrointestinal nematodes cause high productive and therefore economic losses for the farmer. In recent decades, parasitoses have been tackled through the use of anthelmintic treatments whose efficacy has been fully demonstrated. However, their indiscriminate use together with an erroneous dosage and lack of rotation of the different families of anthelmintics led to the appearance of resistant parasite strains all over the world. Likewise, some of the metabolites of certain products are eliminated in the animal's body, feces or through the skin, causing damage to the microbiota found in the skin. That is why we proceeded to look for complementary

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

methods to the pharmacological treatment, which allow the control of the forms present in the environment. The integrated control consists of curing the individuals, for example, with the use of anthelmintics to treat the infected animals, accompanied by measures to reduce the risk of infection, which could consist of limiting the contamination of the pig. In this line, certain strategies such as pasture rotation appear as an effective method, although complicated to apply, since a large surface area is required for grazing the animals. That is why alternatives have been sought, among which biological control stands out in the last decade. There are numerous microorganisms, among them some saprophytic fungi with parasiticidal activity with proven efficacy in numerous studies. Fungi can have larvicidal activity such as *Duddingtonia flagrans* or ovicidal activity such as *Mucor circinelloides*. The combined use of both fungi is very useful, since it allows acting against a high number of infective stages. Numerous tests were carried out *in vitro*, but less *in vivo* in farm animals, and their efficacy during prolonged periods of administration was unknown, as well as their possible innocuousness.

In the **first study** of the present study, carried out on cows of dairy aptitude in rotational grazing following a leader-follower scheme, the effect of the daily administration of commercially manufactured pellets with chlamydospores of the mentioned fungi was tested. The leader/follower grazing system showed that the intensity of infection by paranfistomids and trichostrongylids in the follower group was limited. However, the high reinfection rate and the difficulty to have enough pastures to use this system showed the difficulties to make this method effective. The incorporation of a mistura of chlamydospores of *M. circinelloides* and *D. flagrans* during the manufacture of pelleted feed made possible an important reduction of *C. daubneyi* eggs and NGI in both groups, which inferred the efficacy of this procedure to reduce the risk of reinfection of the animals.

Due to the lack of information about the safety of daily ingestion of chlamydospores in animal species, a **second study** was carried out in which samples of blood and feces were taken from animals in leader/follower regime for three years, and which received pellets with

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

chlamydospores. In addition, daily examination was carried out to rule out adverse effects on the respiratory, digestive, reproductive apparatus, or the skin. No significant variations were observed in the hematic parameters of the heifers that ingested the spores, unlike the control group in which values lower than the physiological ones (healthy) were detected. No alterations were observed in the heifers at the digestive, reproductive, respiratory or skin level. Anatomopathological examination of three heifers after two years taking chlamydospores, and four others after one year without ingesting them, did not show any evidence of lesion or disorder that could be associated to the infection by fungi, so it was concluded that the regular ingestion of these fungi does not have adverse effects on the animals.

Given the similar climatic conditions in the northern regions of the peninsula, which favor the presence of forage almost all year round (except for some summer periods), pastoral regimes are widely applied to ensure the feeding of ruminants, which sometimes allow to obtain food under the organic label. In the **third trial**, some of the previously acquired knowledge was applied to parasite control in a dairy sheep farm (autochthonous Latxa breed) in Azpeitia (Gipuzkoa, Basque Country). In the first year, two groups of lambs in their first year of grazing were used, one of which received three times a week spores of *M. circinelloides* and *D. flagrans* in a formulation prepared by immersing cereal grains in medium in which the fungi were cultivated, and then administered in mixture with commercial nutritional pellets. Both groups were dewormed with anthelmintics at the beginning and fed under a rotational grazing regime. The second year the same experimental design was followed using two other different groups of ewe lambs. The efficacy of the parasiticidal fungi in combination with rotational grazing could be demonstrated, since over the two years the egg count in the group that received the spores did not exceed 250 epg compared to 600 epg in the other group. The

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

blood parameters of the lambs supplemented with parasiticidal fungi remained at normal values, associating the lower egg shedding with a good health status than that of the lambs with a higher intensity of infection. The results obtained indicate the usefulness of implementing an integrated control plan that combines pasture rotation with the use of fungi with parasiticidal activity for the control of strongyles in dairy sheep.

The results of the present study lead to the conclusion that the combination of two species of saprophytic fungi, *Mucor circinelloides* (ovicide) and *Duddingtonia flagrans* (larvicide) offers a very effective tool to limit the risk of helminth infection in ruminants. If an effective pharmacological treatment is also applied and pasture rotation is observed, a very effective program for the integrated control of helminths that regularly affect ruminants is defined. It is important to emphasize the complete safety of the daily intake of spores of the mentioned fungi for grazing cattle. The administration of the spores can be carried out in the form of nutritional pellets, or cereals previously soaked in the chlamydospores, both with high palatability.

Ces dernières années, l'exploitation en écologie a évolué jusqu'à devenir un secteur très important. Ces animaux suivent un système de pâturage, ce qui implique des risques de souffrir des infections parasitaires dûes à l'ingestion de formes infectantes qui se développent sur le sol. Les trématodes et nématodes gastro-intestinaux qui causent les helminthoses, provoquent des grandes pertes productives et en conséquence économiques pour l'éleveur. Pendant les dernières décades, la lutte contre les parasitoses a été faite avec des traitement antiparasitaires qui ont été totalement efficaces. Néanmoins, leur utilisation indiscriminée, un mauvais dosage et une absence de rotation des différentes familles antihelminthiques ont provoqué l'apparition de souches de parasites résistants dans le monde. De la même manière, quelques métabolites de certains produits son éliminés par l'urine des animaux, les selles ou par la peau

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ce qui cause des dommages sur le microbiote qui est présente par terre. Tout ça à fait que des alternatives au traitement pharmacologique soit mises en place pour permettre de contrôler les parasites présents dans le sol. Le contrôle intégré permet la guérison, par exemple avec l'emploi d'antihelminthiques pour traiter les animaux infectés accompagné de mesures qui permettent de diminuer le risque d'infection, qui peuvent limiter la contamination du sol. Certaines stratégies comme la rotation des pâtures sont efficaces mais compliqué à mettre en place, car une grande superficie est nécessaire pour les animaux. En conséquence, des alternatives ont été recherchées, notamment le contrôle biologique utilisé depuis une dizaine d'années. Il existe plusieurs microorganismes, notamment les champignons saprophytes avec une activité parasiticide dont l'efficacité a été prouvée dans de nombreux essais. Les champignons peuvent avoir une activité larvicide comme *Duddingtonia flagrans* ou ovicide comme *Mucor circinelloides*. La mélange des deux champignons est d'une grande efficacité car ça permet d'agir contre les larves et les œufs de parasites. Un grand nombre de recherches *in vitro,* un peu moins *in vivo* sur des animaux d'élevage, on été faites sans connaitre l'efficacité pendant de longues périodes d'administration ni l'innocuité des champignons.

Le **premier essai** de cette étude, a été fait avec des vaches en lactation sur un système de pâturage rotationnel qui suit un modèle de "leaders & followers", où l'effet d'une administration journalière de pellets mélangés avec de chlamydospores des champignons, a été testé. Le système "leaders & followers" a montré que ça pouvait être utile pour limiter l'intensité de l'infection de paramphistomes et trichonstrogilides pour le groupe «follower». Cependant, la réinfection précoce et la difficulté d'avoir assez de pâturages montrent les problèmes de l'application de cette méthode. L'utilisation d'un mélange de chlamydospores de *M. circinelloides* et *D. flagrans* pendant la fabrication de pellets, a permis de réduire le nombre d'œufs de *C. daubneyi* et de NGI dans les deux groupes, ce qui permet de diminuer le risque de réinfection des animaux.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Il existe très peu d'informations sur l'innocuité de l'ingestion au quotidien des chlamydospores, en conséquence un **deuxième essai** a été réalisé. Pour ça, pendant trois ans des prises de sang et de selles ont été faites sur des génisses qui suivaient un système de « leaders & followers » et qui avaient reçu par voie orale des pellets avec des chlamydospores. Tous les jours un examen des animaux se faisait pour observer des possibles effets adverses sur l'appareil respiratoire, digestif, reproducteur ou sûr la peau. Aucune variation sur les paramètres hématiques a pu être observé à la différence du groupe de génisses qui ne recevait pas les spores ou les valeurs étaient plus basses que les valeurs physiologiques (sains). Aucune altération au niveau digestif, reproductif, respiratoire ou cutané n'a pu être observée. Les autopsies des trois génisses après l'ingestion pendant deux ans de spores, et de quatre génisses après un an sans manger des spores, ont montré qu'il n'existe aucune évidence de lésion ou de perturbation qui peut être liée à l'infection par des champignons. En conclusion l'ingestion régulière de ces champignons n'a aucun effet adverse sur les animaux.

Dans le nord de la péninsule ibérique les conditions climatiques sont similaires, ce qui favorise la présence de fourrage pendant presque toute l'année (à l'exception des quelques périodes estivales). Le pâturage s'utilise beaucoup car ça permet d'obtenir dans certains cas le certificat écologique. Le but du **troisième essai**, c'était d'appliquer les connaissances acquises préalablement, pour le côntrole de parasites dans une ferme de moutons en lactation (race autochtone Latxa) de Azpetia (Guipuzkoa, Pays basque). La première année deux groupes d'agneaux en première année de pâturage on été utilisés. Un groupe recevait trois fois par semaine des spores de *M. circinelloides* y *D. flagrans* dans une formule élaborée grâce à l'immersion de graines de céréales dans un liquide qui contenait des spores. Ce mélange était administré avec de pellets aux animaux. Un traitement antiparasitaire a été fait au début de l'essaie dans les deux groupes sous un système de pâturage rotationnel. La deuxième année le même modelé a été appliqué sur deux nouveaux groupes avec différents agneaux. L'efficacité des champignons parasiticides en combinaison avec la rotation des pâturages a pû être prouvée, car pendant les deux

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ans de l'étude le comptage des œufs sur le groupe qui recevait les spores n'était pas plus de 250 hpg au contraire de 600 hpg de l'autre groupe. Les paramètres sanguins des agneaux qui recevaient les champignons sont restés dans des valeurs normales conséquence d'une bonne santé associé a une élimination diminuée d'œufs à la différence des agneaux qui étaient plus infectés. Les résultats obtenus montrent l'utilité du control intégré qui combine rotation de pâturages avec l'utilisation de champignons avec un activité parasiticide, pour le contrôle des strongles sur des moutons en lactation.

Les résultats de cette étude nous permettent de savoir que le mélange des deux champignons saprophytes, *Mucor circinellodies* (ovicide) et *Duddingtonia flagrans* (larvicide) est un outil efficace pour limiter le risque d'infection par des helminthes pour les ruminants. Si en plus on fait un traitement pharmacologique efficace et une rotation de pâturages on peut avoir un programme très bon pour le contrôle intégré des helminthoses qui altèrent régulièrement aux ruminants. C'est important de signaler la totale innocuité de spores de champignons administrés par voie orale quotidiennement. L'administration des spores peut se faire avec des pellets, ou des céréales imprégnées de spores. Les deux formules sont ingérées sans problème par les animaux.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

9. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, K.A., Taylor, M.A., & Stubbings, L.A. (2004). Anthelmintic resistance management in sheep. *The Veterinary Record*, 154, 735-736.

Aguilar-Marcelino, L., Mendoza-de-Gives, P., Torres-Hernández, G., López-Arellano, M.E., Becerril-Pérez, C.M., Orihuela-Trujillo, A., Torres-Acosta, J.F.J., & Olmedo Juárez, A. (2017). Consumption of nutritional pellets with *Duddingtonia flagrans* fungal chlamydospores reduces infective nematode larvae of *Haemonchus contortus* in faeces of Saint Croix lambs. *Journal of Helminthology*, 91, 6, 665-671.

Almada, A. (2015) Perdidas productivas e impacto económico. *Boletin Tecnico MERIAL LATAM*.

Alonso, U. (2016). Prevalencia de protozoos y trematodos en pequeños rumiantes mantenidos en intensivo en Galicia. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Santiago de Compostela.

Alunda, J.M., y Reguera, A. (1985). Enfermedades parasitarias en el ganado vacuno: Tricostrongilidosis- epizootilogía. *Bovis*, 5: 25-33.

Álvarez-Sánchez, M.A, Pérez-García, J, Cruz-Rojo M.A., & Rojo-Vázquez, F.A. (2006). Anthelmintic resistance in trichostrongylid nematodes of sheep farms in Northwest Spain. *Parasitology Research*, 99, 1, 78-83.

Araujo J.M., Araújo J.V., Braga F.R., Tavela A., Ferreira S.R., & Soares F.E. (2012). Control of Strongyloides westeri by nematophagous fungi after passage through the gastrointestinal tract of donkeys. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, 21, 2, 157-60.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ardelli, B.F., & Prichard, R.K. (2008). Effects of ivermectin and moxidectin on the transcription of genes coding for multi drug ressitance associated proteins and behaviour in Caernohabditis elegans. *Journal of Nematology*, 10, 290-298.

Arias, M., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Pedreira, J., Díaz, P., Lomba, C., Alvarez, A., Diez-Baños, P., & Morrondo, P. (2004). Prevalence of bovine fasciolosis by using a 2.9 kDa *Fasciola hepatica* recombinant protein. *Parassitologia*, 46, 21.

Arias Vázquez, M. S., Lomba, C., Painceira, A., Vázquez, L., Cienfuegos, S., Dacal, V., Pedreira, J., Sánchez-Andrade Fernández, R., Morrondo Pelayo, M.P., & Paz Silva, A. (2006). Trematodosis parasitarias en bovinos sacrificados en el noroeste de españa. En P. Díez Baños, J. L. Benedito Castellote, M. P. Morrondo Pelayo, J. Hernández Bermúdez, & C. M. López Sández (eds.), Veinte años de buiatría: actas del XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes, Lugo-Santiago de Compostela, 12-15 de julio.

Arias, M., Piñeiro, P., Hillyer, G.V., Suárez, J.L. Francisco, I., Cortiñas, F.J., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R. &Paz-Siva, A. (2010). An approach of thelaboratory to the field: assessement of the influence of cattle management on the seroprevalence of fascioliasis by using policlonal and recombinant based ELISAs. *The Journal of Parasitology*, 96, 626-631.

Arias, M., Lomba, C., Dacal, V., Vázquez, L., Pedreira, J., Francisco, I., Piñeiro, P., Cazapal-Monteiro, C., Suárez, J.L., Diez-Baños, P., Morrondo., Sanchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. (2011a). Prevalence of mixed trematode infections in a abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. *Veterinary Record*, 168, 408-412.

Arias M., Suárez J., Cortiñas F.J., Francisco I., Suárez J.L., Romasanta A., Cazapal-Monteiro C., Sánchez-Andrade R. & Paz-Silva A. (2012). Restoration of fungal biota in the soil is essential to prevent infection by endoparasites in grazing animals. In: Paz-Silva A, editor. Fungi: types, environmental impact, and role in disease. Hauppauge, N.Y: Nova Science Publisher's, Inc., pp. 551.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Arias, M. S., Cazapal-Monteiro, C., Suárez, J., Miguélez, S., Francisco, I., Arroyo, F. L., & Mendoza de Gives, P. (2013a). Mixed production of filamentous fungal spores for preventing soil-transmitted helminth zoonoses: A preliminary analysis. *BioMedicine Research International*.

Arias, M.S., Suárez, J., Cazapal-Monteiro, C.F., Francisco, I., López-Arellano, M.E., Piñeiro, P., Suárez, J.L., Sánchez-Andrade, R., Mendoza de Gives, P., & Paz-Silva, A. (2013b). Trematodes enhance the development of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys (Duddingtonia) flagrans*. *Fungal Biology*, 117, 540-544.

Arias, M.S., Arroyo, F.L., Cazapal-Monteiro, C., Hernández, J.A., Suárez, J., Francisco, I., López-Arellano, M.E., Sánchez-Andrade, R., Mendoza de Gives, P. & Paz-Silva, A. (2015). Formulating *Duddingtonia flagrans* in nutritional pellets for the sustainable control of equine strongyles. *Environmental Science & Technology*, 1-16.

Arroyo-Balán, F., Hernández, J.A., Bonilla, R., Miguélez, S., Sanchís, J., & Suárez, J.L. (2015). Manufacturing feedstuff with *Mucor circinelloides* spores to prevent cattle infection by *Calicophoron daubneyi*. Poster presented at: Congress on Controversies in Bovine Health Industry & Economics, CoBo. Berlin, Germany.

Arroyo, F.L., Arias, M.S., Cazapal-Monteiro, C.F.., Hernández, J.A., Suárez, J., Miguélez, A., Romasanta, A., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. (2016). The capability of the fungus *Mucor circinelloides* to maintain parasiticidal activity after the industrial feed pelleting enhances the possibilities of biological control of livestock parasites. *Biological Control*, 92, 38-44.

Arroyo, F.L., Hernández, J.Á., Cazapal-Monteiro, C.F., Pedreira, J., Sanchís, J., Romasanta, Á., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M.A. (2017). Effect of the filamentous fungus *Mucor circinelloides* on the development of eggs of the rumen fluke *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae). *Journal of Parasitology*.

Arroyo Balán, F.L (2017). Formulación de esporas de hongos parasiticidas en pellets nutricionales. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Assis, R. C., Luns, F. D., Araújo, J. V., & Braga, F.R. (2012). Biological control of trichostrongyles in beef cattle by the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern brazil. *Experimental Parasitology*, 132, 3, 373-377.

Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., & Jackson, F. (2006). Can plant secondary metabolites have a role in controlling gastrointestinal nematode parasitism in small ruminants*? BSAP Occasional Publication*, 34, 197-207.

Ballesteros Esteban, M. (2018). Control frente a los nematodos gastrointestinales del ganado ovino: desarrollo de nuevas herramientas para el diagnóstico precoz de la resistencia antihelmíntica. Tesis doctoral. Universidad de León.

Bang, K.S., Familton, A.S., & Sykes, A.R. (1990b). Effect of copper oxide wire particle treatment on stablishment of major gastrointestinal nematodes in lambs. *Research in Veterinary Science*, 49, 132-137.

Baudena, M.A., Chapman., M.R, Larsen, M., & Klei, T.R (2000). Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, 89, 219-230.

Bennema, S.C., Ducheyne, E., Vercruysse, J., Claerebout, E., Hendrickx, G., & Charlier, J. (2011). Relative importance of management, meteorological and environmental factors in the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in a temperate climate zone. *International Journal Parasitology*, 41, 2, 225-33.

Béjar, P. (2011). Infecciones digestivas y pulmonares de etiología parasitaria en ganado de la raza autóctona "Cabra Galega": Influencia de factores intrínsecos y extrínsecos. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Santiago de Compostela.

Béjar, P. (2017). Estudio epidemiológico de las infecciones parasitarias de los aparatos digestivo, respiratorio y reproductor del ganado caprino en Galicia. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Blanckenhorn, W. U., Puniamoorthy, N., Scheffczyk, A., & Römbke, J. (2013). Evaluation of Eco-Toxicological Effects of the Parasiticide Moxidectin in Comparison to Ivermectin in 11 Species of Dung Flies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 15-20.

Boguś, M.I., Czygier, M., Kddra, E., & Samborski, J. (2005). In vitro assessment of the influence of nutrition and temperature on growing rates of five *Duddingtonia flagrans* isolates, their insecticidal properties and ability to impair *Heligmosomoide spolygyrus* motility. *Experimental Parasitology*, 109, 115-123.

Braga, F.R., Araújo, J.V., Araujo, J.M., Silva, AR., Carvalho, R.O., & Campos, A.K. (2009a). In vitro evaluation of nematode predacious fungus *Duddingtonia fagrans* on cyathostomes infective larvae of equines (Nematoda: Cyathostominae). *Revista Brasileira de Parasitologia Vetererinaria*, 1, 83-85.

Braga, F.R., Silva, AR., Carvalho, R.O., Araújo, J.V., & Pinto, P.S.A. (2011). Ovicidal activity of different concentrations of *Pochonia chlamydosporia* chlamydospores on *Taenia taeniae formis* eggs. *Journal of Helminthology*, 85, 1, 7-11.

Braga, F.R., Ferraz, C.M., da Silva, E.N., & de Araújo, J.V. (2020). Efficiency of the Bioverm® (*Duddingtonia flagrans*) fungal formulation to control *in vivo* and *in vitro* of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in sheep. *Biotechnolgy*, 10, 2, 62.

Brito, D.L., Dallago, B.S., Louvandini, H., dos Santos, V.R., Torres, S.E., Gomes, E.F., & McManus, C.M. (2013). Effect of alternate and simultaneous grazing on endoparasite infection in sheep and cattle. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria*, *22*, 4, 485-494.

Burke, J.M., Miller, J.E., Olcott, D.D., Olcott, B.M., & Terrill, T.H. (2004). Effect of copperoxide wire particles dosage and feed supplement level on *Haemonchus contortus* infection in lambs. *Veterinary Parasitology*, 123, 235-243.

Burke, J.M., & Miller J.E. (2006). Evaluation of Multiple Low Doses of Copper Oxide Wire Particles Compared with Levamisole for Control of *Haemonchus Contortus* in Lambs. *Veterinary Parasitology*, 139, 1-3, 145–149.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Burke, J. M., Terrill, T. H., Kallu, R. R., Miller, J. E., & Mosjidis, J. (2007). Use of copper oxide wire particles to control gastrointestinal nematodes in goats. *Journal of Animal Science*, 85, 10, 2753-2761.

Burke, J.M., Miller, J.E., & Terrill, T.H. (2009). Impact of rotational grazing on management of gastrointestinal nematodes in weaned lambs. *Veterinary parasitology*, 163, 1-2, 67-72.

Burke, J.M., & Miller, J.E. (2020). Sustainable Approaches to Parasite Control in Ruminant Livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36, 1, 89-107.

Cabaret, J., & Mangeon, N. (1994). Fertilizers on pastures in relation to infestation of goats with strongylie small lunworms and Moniezia. *Small Ruminant Research*, 16, 269-276.

Cabaret, J., Bouilhol, M., & Mage, C. (2002). Managing helmintihs of ruminants in organic farming. *Veterinary Research*, 33, 5, 625-640.

Cai, K.Z., Wang, F.H., Wang, K.Y., Liu, J.L., Wang, B.B., Xu, Q., Xue, Y.-J., Wang, F., Zhang, C., & Fang, W.X. (2017). In vitro predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and after passing through gastrointestinal tract of small ruminants on infective larvae of trichostrongylides. *Experimental Parasitology*, 177, 104-111.

Canhão-Dias, M., Paz-Silva, A., & de Carvalho, L.M. (2020). The efficacy of predatory fungi on the control of gastrointestinal parasites in domestic and wild animals. A systematic review. *Veterinary Parasitology*, 283.

Casillas-Aguilar, JA., Mendoza de Gives, P., López-Arellano, M.E., & Hernández, L. (2008). Evaluation of multinutritional pellets containing *Duddingtonia flagrans* chlamydospore for the control of ovine haemonchosis. *Animal biodiversity and emerging diseases*, 1149, 161-163.

Castillo, C.R (1994). Estudio fisiopatológico de la homeostasis del equilibrio acido-base y electrolítico e interacciones con la hematología y perfil metabólico en hembras de ganado ovino durante la preñez, parto y puerperio. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Carvalho, RO., Araújo, JV., Braga, FR., Araujo, JM., Silva, AR., & Tavela, AO. (2009). Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of Ancylostoma spp.: evaluation *in vitro* and after passing through the gastrointestinal tract of dogs. *Journal of Helminthology*, 83, 3, 231-6.

Cazapal-Monteiro, C., Hernández, J.A., Arias, M.S., Suárez, J.L, Miguélez, S., Francisco, I., Lago, P., Rodríguez, M.I., Cortiñas, FJ., & Romasanta, A. (2014). Horse Rearing Conditions, Health Status and Risk of Sensitization to Gastrointestinal Parasites. En: Paz-Silva A., Arias M.S, Sánchez-Andrade Fernández, R. (eds.) Horses: Breeding, Health disorders and effects on performance & Behaviour. Nova Science Publishers, Hauppauge (NY), USA, pp. 73-92.

Cenci, F.B., Louvandini, H., McManus, C.M., Dell'Porto, A., Costa, D.M., Araújo, S.C., & Abdalla, A.L. (2007). Effects of condensed tannin from *acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. *Veterinary Parasitology*, 144, 1-2, 132-137.

Cernanska, D., Varady, M., & Corba, J. (2006). A survey on anthelmintic resistance innematode parasites of sheep in the Slovak Republic. *Veterinary Parasitology,* 135, 39-45.

Charlier, J., Sanders, M., & Vercruysse, J. (2009). The direct costs of infections with gastrointestinal nematodes and liverfluke in the Flemish dairy population. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78, 284-284.

Charlier, J., van der Voort, M., Kenyon, F., Skuce, P., & Vercruysse, J. (2014). Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in Parasitology*, 30, 7, 361-367.

Chartier, C., Etter, E., Hoste, H., Pors, I., & Delac, B. (2000). Efficacy of copper oxide needles for the control of nematode parasites of dairy goats. *Veterinary Research*, 24, 1-11.

Chartier, C., & Pors, I. (2003). Effect of the nematophagous fungus, *Duddingtonia flagrans*, on the larval development of goat parasitic nematodes: a plot study. *Veterinary Research*, 34, 221–230.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Cienfuegos, S., Vázquez, L., Dacal, V., Pardo, M., Fernández, G., Lago, N., Morrondo, P., & López, C. (2007). Estudio preliminar de las nematodosis broncopulmonares en el ganado ovino de Galicia. X Congreso Ibérico de Parasitología. Madrid, España.

Cienfuegos, S., Diaz, P., Vazquez. L., Dacal, V., Lago, N., Pato, J., Fernández, G., Panadero, R., Viña, M., Morrondo, P., Diez-Baños, P., y Lopez, C. (2009). Prevalencia e intensidad de parasitación en granjas de pequeños rumiantes en Galicia. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Tomo 1, 143-145.

Clark, M., & Tilman, D. (2017). Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. *Environmental Research Letters*, 12.

Coles, G.C. (2002). Cattle nematodes resistant to anthelmintics: Why so few cases? *Veterinary. Research*, 33, 481-489.

Colvin, A.F., Walkden-Brown, S.W., Knox, M.R., & Scott, J.M. (2008). Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. *Veterinary Parasitology*, 153, 1-2, 108-20.

Cooke, A. S., Morgan, E. R., & Dungait, J. (2017). Modelling the impact of targeted anthelmintic treatment of cattle on dung fauna. *Environmental toxicology and pharmacology*, 55, 94-98.

Cordero del Campillo M., y Rojo Vázquez, F. (2000). Parasitología Veterinaria, McGraw-Hill Interamericana de España, España. ISBN: 84-486-0236-6.

Cortiñas, F.J., Cazapal-Monteiro, C.F., Hernández, J.A., Arroyo, F.L., Miguélez, S., Suárez, J., Arellano, M.E., Sánchez-Andrade, R., Gives, P., Paz-Silva, A., & Arias, M.S. (2015). Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. *Biocontrol Science and Technology*, 25, 12, 1443-52.

Craig, T.M. (1993). Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, 46, 121-131.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Demeler, J., Van Zeveren, A.M., Kleinschmidt, N., Vercruysse, J., Höglund, J., Koopmann, R., Cabaret, J., Claerebout, E., Areskog, M., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2009). Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastrointestinal nematodes of cattle in Northern Europe. *Veterinary Parasitology*, 160, 109-115.

Deplazes, J., Eckert, A., Mathis, G., von Samson, H., & Horst, Zahner. (2016). Parasitology in Veterinary Medicine, 650 pp. Wageningen Academic Publishers. ISBN: 978-90-8686-274-0.

Dias, A.S., Araújo, J.V., Braga, F.R, Puppin, A.C., & Perboni, W.R. (2013). *Pochonia chlamydosporia* in the biological control of *Fasciola hepatica* in cattle in Southeastern Brazil. *Parasitology Research*, 112.

Díaz, P., Sánchez-Andrade, R., Pedreira, J., Suárez, J.L., Álvarez, A., Arias, M., Lomba, C., Díez-Baños, P., & Paz-Silva, A. (2004). Bovine paramphistomosis detection by coprology and indirect-ELISA in Lugo (Galicia, NW Spain). *Parasitología*, 46, 40.

Díaz, P., Pedreira, J., Arias, M., Lomba, C., Suarez, 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 los principales endoparásitos del ganado vacuno de raza rubia gallega de la provincia de Lugo. Tesis doctoral.Universidad de Santiago de Compostela.

Díaz, P., Lomba, C., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Díez-Baños, P., Morrondo, P., & Paz-Silva, A. (2006). Analysis of the IgG antibody response against paramphistomidae trematoda in naturally infected cattle: application to serological surveys. *Veterinary Parasitology*, 140, 281-288.

Díaz, P., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Pedreira, J., Arias, M., & Morrondo, P. (2007b). Assessment of climatic and orographic conditions on the infection by *Calicophoron daubneyi* and *Dicrocoelium dendriticum* in grazing beef cattle (NW spain). *Veterinary Parasitology*, 149, 3-4, 285-289.

Díaz, P., Pérez, A., Cabanelas, E., y Prieto, A. (2014). Parasitoses máis frecuentes no ganado vacún de Galicia e a súa repercusión sobre as producións. *Revista Afriga*, 110.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Díez-Baños, P., Pedreira, J., Sánchez-Andrade. R., Francisco, I., Suárez, J.L., Díaz, P., Panadero, R., Arias, M., Paz-Silva, A., & Morrondo, P. (2008). Field Evaluation for Anthelmintic-Resistant Ovine Gastrointestinal Nematodes by *In Vitro* and *In Vivo* Assays. *Journal of Parasitology*, 94, 4, 925-928.

Dimander, S. O., Höglund, J., Uggla, A., Spörndly, E., & Waller, P. J. (2003). Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for first-season grazing cattle in Sweden. *Veterinary parasitology*, 111, 2-3, 193-209.

Eddi, C., Caracostangolo, J., Peña, M., Schapiro, J., Maranguunich, L., Waller, P.J., & Hansen, J.W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Argentina. *Veterinary Parasitology*, 62, 3-4, 189-197.

Eguinoa, P., Intxaurrandieta, J.M., Lasarte, J.M., Lazkanotegi, P., & Ancin, M. (2012). Cuantificación del trabajo en explotaciones de ovino de leche en Navarra. Incidencia de la estacionalidad ligada al pastoreo. Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de Pastos. Pamplona, España: 297-301.

Epe, C., Holst, C., Koopmann, R., Schieder, T., Larsen, M., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2008). Investigation on the influence of nematophagous fungi as feed additive on nematode infection risk of sheep and goats on pasture. *Agricultural Forest Research*, 3, 191-152.

Errouissi, F., & Lumaret, J.P. (2010). Field effects of faecal residues from ivermectin slow-release boluses on the attractiveness of cattle dung to dung beetles, *Medical and Veterinary Entomology*, 24, 433-440.

EUROSTAT, 2019. Organic farming in the EU. A fast growing sector. Disponible en: https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/food-farming-fisheries/farming/documents/market-brief-organic-farming-in-the-eu_mar2019_en.pdf

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Evans, D.E., Kawabata, A., Wilson, L.D., Kim, K., Dehghanpir, S. D., Gaunt, S.D., & Gill, M.S. (2018). Entomophthoro mycosis and mucormycosis as causes of pneumonia in vietnamese potbellied pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigatio: Official & Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 30, 1, 161-164.

Eysker, M., Bakker, N., Kooyman, F. N., Olthuis, S. O., & Ploeger, H. W. (2006). Effect of biological control through the daily application of spores of *Duddingtonia flagrans* in lambs kept under an evasive grazing system in the netherlands. *Veterinary Parasitology*, 140, 3-4, 312-320.

Faedo, M., Larsen, M., & Waller, P.J. (1997). The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: comparison between Australian isolates of *Arthrobortrys* spp. and *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology*, 72, 149-155.

Faedo, M., Larsen, M., Dimander, S., Yeates, G., Höglund, J., & Waller, P. (2002). Growth of the Fungus *Duddingtonia flagrans* in Soil Surrounding Feces Deposited by Cattle or Sheep Fed the Fungus to Control Nematode Parasites. *Biological Control*, 23. 64-70.

Faessler, H., Torgerson, P.R., & Hertzberg, H. (2007). Failure of *Duddingtonia flagrans* to reduce gastrointestinal nematode infections in dairy ewes. *Veterinary Parasitology*, 147, 1-2, 96-102.

FAO. (1972). Food and Agriculture Organization of the United Nations The state of food and agriculture. Rome, 191.

Farkas, R., Gyurcsó, A., & Börzsönyi, L. (2003). Fly larvicidal activity in the faeces of cattle and pigs treated with endectocide products. *Medical and Veterinary Entomology*, 17, 301-306.

Fernández, A.S, Henningsen, E., Larsen, M., Nansen, P., Grønvold, J., & Søndergaard, J. (1999). A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* a biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. *Equine Veterinary Journal*, 3, 488-491.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ferreira, S.R, Araújo, J.V, Braga, F.R, Araujo, J.M, Carvalho, R.O, Silva, A.R, Frassy, L.N., & Freitas, L.G. (2011). Ovicidal activity of seven *Pochonia chlamydosporia* fungal isolates on Ascaris suum eggs. *Tropical animal health and production*, 43, 639-642.

Flament Simon, S. (2015). Prevención de zoonosis parasitarias mediante hongos telúricos. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Santiago de Compostela.

Flack, S. (2016). The Art and Science of Grazing. Chelsea Green Publishing, Vermont, pp.240. ISBN: 10-1603586113

Floate, K.D, Spooner, R.W., & Colwell, D.D. (2001). Larvicidal activity of endectocides against pest flies in the dung of treated cattle. *Medicine Veterinary Entomology*, 15,117-120.

Francisco, I., Sánchez, J.A., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Arias, M., Mula, P., Suárez, J.L., Morrondo, P., Díez-Baños, P., Sánchez-Andrade, R., & Paz-Silva, A. (2009b). Clinical trial of efficacy of ivermectin *pour-on* against gastrointestinal parasitic nematodes in silvopasturing horses. *Equine Veterinary*, 41, 713-715.

Fontenot, M.E., Miller, J.E., Pena, M.T., Larsen, M., & Gillespie, A. (2003). Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. *Veterinary Parasitology*, 118, 203-213.

Forbes, A.B., Huckle, C.A., & Gibb, M.J. (2007). Evaluation of the effect of eprinomectin in young dairy heifers sub-clinically infected with gastrointestinal nematodes on grazing behaviour and diet selection. *Veterinary Parasitology*, 150, 4, 321-332.

Freiria, D. (2003). Estudio sobre resistencias antihelmínticas en pequeños rumiantes. Memoria de Licenciatura. Universidad de Santiago de Compostela.

Furgasa, W., Abunna, F., Yimer, L., & Haile, G. (2018). Review on anthelmintic resistance against gastrointestinal nematodes of small ruminants: Its status and future perspective in Ethiopia. *Journal Veterinary of Science and Animal Husbandry*, 6, 407.

Fthenakis, G.C., Papadopoulos, E., & Himonas, C. (2005). Effects of three anthelmintic regimes on milk yield of ewes and growth of lambs. *Journal of Veterinary Medicine. Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 52, 2, 78-82.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

García, A.L., y Juste, R.A. (1987). Observaciones sobre la prevalencia de los helmintos parásitos del ganado vacuno de la C.A.V. ITEA, 7, 262-322.

García-Romero, C., y Mata Moreno, C. (2005). La ganadería ecológica en España. *Revista Ganadería.* Editorial Agrícola Española. 36, 14-18. ISSN 1695-1123.

García-Romero, C. (2009). Problemática actual e importancia del modelo ganadero ecológico (I). *Revista Ganadería*, Editorial Agrícola Española. 60, 58-61. ISSN 1695-1123.

García-Romero, C. (2017) Ganadería ecológica y adaptación al cambio climático. *AE. Revista Agroecológica de Divulgación*, 29, 28-29. ISSN 2172-3117.

García-Romero, (2019). Ventajas de las razas autóctonas y la ganadería extensiva ecológica en la protección de las zonas naturales frente a incendios y otros riesgos. Agroecológia frente al cambio climático. XXVII Jornadas Técnicas de SEAE y otros retos del Siglo XXI VI Congreso Valenciano de Agricultura -UPV- Campus de Gandía, Valencia, España.

Geurden, T., Hoste, H., Jacquiet, P., Traversa, D., Sotiraki, S., Frangipane di Regalbono, A., & Bartram, D. (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in france, greece and italy. *Veterinary Parasitology*, 201, 1-2, 59-66.

Geurden, T., Chartier, C., Fanke, J., di Regalbono, A.F., Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., & Denwood, M.J. (2015). Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5, 3, 163-171.

Gilbert, G., MacGillivray, F.S., Robertson, H.L., & Jonsson, N. (2019). Adverse effects of routine bovine health treatments containing triclabendazole and synthetic pyrethroids on the abundance of dipteran larvae in bovine faeces. *Scientific Reports*, 9, 1, 4315.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Gómez Piquer, J., Viñas, M., Sánchez, G., y Monte, C. (1980). Biopatología hepática ovina (lesiones quísticas, nodulares y parasitarias del hígado). III. Pruebas de floculación y precipitación, bilirrubina, GOT, GPT y PA. Anales Facultad Veterinaria Zaragoza. 14, 267.

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.

Gómez-Rincón, C. (2006). Valoración del hongo nematófago *Duddingtonia flagrans* como agente de control biológico de los nematodos gastrointestinales en pequeñas rumiantes. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.

Gómez-Rincón, C., Uriarte, J., & Valderrábano, J. (2007). Effect of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* and energy supplementation on the epidemiology of naturally infected kids. *Veterinary Research*, 38, 141-150.

González, (2004). Ganadería Extensiva y medio ambiente: Contribución al equilibrio de los ecosistemas. I Conferencia Internacional Ecológica en el sur de Europa. Zamora, España.

González-Tokman, D., Martínez, M. I., Villalobos-Ávalos, Y., Munguía-Steyer, R., Ortiz-Zayas, M.D., Cruz-Rosales, M., & Lumaret, J.P. (2017). Ivermectin alters reproductive success, body condition and sexual trait expression in dung beetles. *Chemosphere*, 178, 129-135.

Grønvold, J., Wolstrup, J., Nansen, P., Henriksen, S.A., Larsen, M., & Bresciani, J. (1993). Biological control of nematode parasites in cattle with nematode-trapping fungi: a survey of Danish studies. *Veterinary Parasitology*, 48, 311-325.

Grønvold, J., Nansen, P., Henriksen, S.A., Larsen, M., Wolstrup, J., Bresciani, J., Rawat, H., & Fribert, L. (1996). Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *Journal of Helminthology*, 70, 291-297.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Grønvold, J., Wolstrup, J., Nansen, P., Larsen, M., Henriksen, S.A., Bjorn, H., Kirchheiner, K., Lassen, K., Rawat, H., & Kristiansen, H.L. (1999). Biotic and abiotic factors influencing growth rate and production of traps by the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* when induced by *Cooperia oncophora* larvae. *Journal of Helminthology*. 73, 129-136.

Gross, S.J., Ryan, W G., & Ploeger, H.W. (1999). Anthelmintic treatment of dairy cows and its effect on milk production. *The Veterinary Record*, 144, 21, 581-587.

Gutiérrez-Delgado, E.M., Treviño-González, J.L., Montemayor-Alatorre, A., Ceceñas-Falcón, L.A., Ruiz-Holguín, E., Andrade-Vázquez, C.J., & Ramos-Jiménez, J. (2016). Chronic rhino-orbito-cerebral mucormycosis: A case report and review of the literature. *Annals of Medicine and Surgery*, 6, 87-91.

Hall, V.C., Goyal, .S, Davis, M.D. & Walsh, J.S. (2004). Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Paecilomyces lilacinus*: report of three cases and review ofthe literature. *International Journal of Dermatology*, 43, 648-653.

Healey, K., Lawlor, C., Knox, R.M., Chambers, M., & Lamb, J. (2018). Field evaluation of *Duddingtonia flagrans* IAH 1297 for reduction of worm burden in grazing animals: tracer studies in sheep. *Veterinary Parasitology*, 253, 48-54.

Hernández, J.Á., Arroyo, F.L., Suárez, J., Cazapal-Monteiro, C.F., Romasanta, Á., López-Arellano, M.E., Pedreira, J., de Carvalho, L.M., Sánchez-Andrade, R., Arias, M.S., de Gives, P.M., & Paz-Silva, A. (2016). Feeding horses with industrially manufactured pellets with fungal spores to promote nematode integrated control. *Veterinary Parasitology*, 229, 37-44.

Hernández, J.Á., Vázquez, R.A., Cazapal-Monteiro, C., Valderrábano, E., Arroyo, F.L., Francisco, I., Miguélez, S., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M.S. (2017). Isolation of ovicidal fungi from faecal samples of captive animals maintained in a zoological park. *Journal of Fungi*, 3, 29.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Hernández, J.Á., Cazapal-Monteiro, C.F., Sanchís, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M.S. (2018a). Potential Usefulness of Filamentous Fungi to Prevent Zoonotic Soil-Transmitted Helminths. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 18, 690-696.

Hernández, J.Á, Sánchez-Andrade, R., Cazapal-Monteiro, C.F., Arroyo, F.L., Sanchís, J.M., Paz-Silva, A., & Arias, M.S. (2018b). A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and parasiticidal fungi. *Parasites & Vectors*, 11, 240.

Hernández Malagón, J.Á. (2019). Formulaciones comerciales para el hongo parasiticida *Mucor circinelloides*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela.

Hertzberg, H., Maurer, V., Herchendorn, F., & Wanner, A. (2007). Control of gastrointestinal nematodes in cattle under dry pasture conditions. *Revue Suisse Agriculture*, 39.

Höglund, J., Gustafsson, K., Ljungström, B.L., Engström, A., Donnan, A., & Skuce, P. (2009). Anthelmintic resistance in Swedish sheep flocks based on a comparisonof the results from the faecal egg count reduction test and resistant allele frequencies of the beta-tubulin gene. *Veterinary Parasitology*, 161, 60-68.

Holzhauer, M., van Schaik, G., Saatkamp, H.W., & Ploeger, HW. (2011). Lungworm outbreaks in adult dairy cows: Estimating economic losses and lessons to be learned. *The Veterinary Record*, 169, 19, 494.

Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M., & Hoskin, S.O. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, 22, 6, 253-261.

Hoste, H., Torres-Acosta, J.F., Sandoval-Castro, C.A., Mueller-Harvey, I., Sotiraki, S., Louvandini, H., & Terrill, T.H. (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology*, 212, 1-2, 5-17.

Hughes, P.L., Dowling, A.F., & Callinan, A.P. (2007). Resistance to macrocyclic lactone anthelmintics and associated risk factors on sheep farms in the lower North Island of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 55, 4, 177-83.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Hutchings, M.R., Gordon, I.J., Robertson, E., Kyriazakis, I., & Jackson, F. (2000). Effects of parasitic status and level of feeding motivation on the diet selected by sheep grazing grass/clover swards. *Journal of Agriculture Science*, 135, 65-75.

Ibarra, F., Vera Y., y Munguía, J. (2011). Epidemiología de las fasciolosis animal y humana. Capítulo 9. En: Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Editores: Quiroz, R.H. Figueroa, C.J.A., López, A.M.E. Editado por AMPAVE. pp. 477-504. ISBN: 978-607-00-4015-3.

Jobim, M.B., Santurio, J.M., & de la Rue, M.L. (2008). Duddingtonia flagrans: biological control of cattle nematodes in the field. *Ciència Rural*, 38, 8.

Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M.N., & Afaq, M. (2006). Anthelmintic resistance: the state of play revisited. *Life Sciences,* 79, 2413-2431.

Jackson, F., & Coop, R. L. (2000). The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology*, 120, 95.

James, C.E., Hudson, A.L., & Davey, M.W. (2009). Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? *Trends in Parasitology*, 25, 328-335.

Jamous, R. M., Ali-Shtayeh, M. S., Abu-Zaitoun, S. Y., Markovics, A., & Azaizeh, H. (2017). Effects of selected palestinian plants on the *in vitro* exsheathment of the third stage larvae of gastrointestinal nematodes. BMC *Veterinary Research*, 13, 1, 308-7.

Jochmann, R., Lipkow, E., & Blanckenhorn, W. U. (2016). A field test of the effect of spiked ivermectin concentrations on the biodiversity of coprophagous dung insects in switzerland. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 8, 1947-1952.

Kataghe, J. (2018). EU Agricultural Outlook, for markets and income. 2018-2030. Disponible en: https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/facts-and-figures/markets/outlook/medium-term_en

Khan, M.R., Zaidi, B., & Haque, Z. (2012). Nematicides control rice root-knot, caused by *Meloidogyne graminicola*. *Phytopathologia Mediterranea*, 51, 298-306.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Kollmann, A., Touton, I., Brault, A., Alvinerie, M., Galtier, P., & Mougin, C. (2004). Effect of the endectocide ivermectin on filamentous fungi. *Environmental Chemmistry Letters*, 1, 4, 215-218.

Knapp-Lawitzke, F., Krücken, J., Ramünke, S., von Samson-Himmelstjerna, G., & Demeler, J. (2015). Rapid selection for B-tubulin alleles in condon 200 conferring bezimidazole resistance in an *Ostertagia ostertagi* isolate on pasture. *Veterinary Parasitology,* 209, 84-92.

Knight-Jones, T.J.D., & J. Rushton. (2013). The Economic Impacts of Foot and Mouth Disease – What Are They, How Big Are They and Where Do They Occur? *Preventive Veterinary Medicine*, 112, 3-4, 161-173.

Knox, M.R. (2002). Effectiveness of Copper Oxide Wire Particles for *Haemonchus Contortus* Control in Sheep. *Australian Veterinary Journal*, 80, 4, 224-227.

Köler, P. (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*, 31, 336-345.

Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., & Rubel, F. (2010). World map of the Köppen–Geiger climate classification updated. Meteorol. Zeitsch 15, 259-263.

Kotschi, J., & Müller-Säman, K. (2004). The Role of Organic Agriculture in Mitigating Climate Change – A Scoping Study. IFOAM. Bonn.

Kumar, N., Rao, T.K., Varghese, A., & Rathor, V.S. (2013). Internal parasite management in grazing livestock. *Journal Parasitology Diseases*, 37, 151-157

Kwenti, T. E. (2017). 'Biological Control of Parasites', in H. Khater, M. Govindarajan, G. Benelli (eds.), Natural Remedies in the Fight Against Parasites, IntechOpen, London, 248 pp. ISBN: 978-953-51-3290-5.

Lacey, E. (1990b). Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*, 6, 112-115.

Lara, D.M. (2003). Resistencia a Los Antihelmínticos: Origen, Desarrollo y Control. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 4 1, 55.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Larsen, M.N., & Roepstorff, A. (1999). Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pastures. *Parasitology*, 119, 209-220.

Larsson, A., Dimander, S. O., Rydzik, A., Uggla, A., Waller, P. J., & Höglund, J. (2006). A 3-year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle-effects on animal performance. *Veterinary parasitology*, 142, 3-4, 197-206.

Lazar, S., Lukaszewicz, J., Persad, K., & Reinhardt, J. (2014). Rhinocerebral *Mucor circinelloides* infection in immunocompromised patient following yogurt ingestion. *Delaware medical journal*, 86, 245-8.

Levine, N.D. (1963). Weather, climate, and the bionomics of ruminant nematode larvae. In: Brandly, C.A., Jungherr, E.L. (Eds.), Advances in Veterinary Science. Academic Press Inc., London, New.

Levine, N.D. (1980). Weather and the ecology of bursate nematodes. *International Jounral of Biometeorology*, 24, 341–346.

López, C.M., Cienfuegos, S., Dacal, V., Vázquez, L., Panadero, R., Fernández, G., Díaz, P., Lago, N., Díez-Baños, P., & Morrondo, M.P. (2010). Efficacy of anthelmintic control programs against natural *Muellerius capillaris* infection in sheep in the north-west of Spain. Effect on blood gases and pH in venous blood samples. *Parasite*, 17, 167-171.

López, C.M., Fernández, G., Viña, M., Cienfuegos, S., Panadero, R., Vázquez, L., Díaz, P., Pato, J., Lago, N., Dacal, V., Díez-Baños, P., & Morrondo, P. (2011). Protostrongylid infection in meat sheep from Northwestern Spain: Prevalence and risk factors. *Veterinary Parasitology*, 178, 108-114.

Lumaret, J.P., Errouissi, F., Floate, K.D., Rombke, J., & Wardhaugh, K. (2012). A review on the toxicity and non-target effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13, 1004-1060.

MAFF. (1986). Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Reference Book 418. HMSO, London.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Mahieu, M. (2013). Effects of stocking rates on gastrointestinal nematode infection levels in a goat/cattle rotational stocking system. *Veterinary Parasitology*, 198, 1-2, 136-44.

Mahieu, M., Gauthier, V., Arquet, R., Calif, B., Archimède, H., & Mandonnet, N. (2015). Feasibility of a "leader-follower" grazing system instead of specialised paddocks with regard to integrated gastrointestinal control in small ruminant farming. *Tropical Animal Health and Production*, 47, 4, 773-778.

Malrait, K., Verschave, S., Skuce, P., Van Loo, H., Vercruysse, J., & Charlier, J. (2015). Novel insights into the pathogenic importance, diagnosis and treatment of the rumen fluke, *Calicophoron daubneyi*, in cattle. *Veterinary parasitology*, 207, 1-2, 134–139.

Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E., & Campo, R. (2001). Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology*. 123, 91-114.

Manning, P., Beynon, S.A., & Lewis, O.T. (2017). Quantifying immediate and delayed effects of anthelmintic exposure on ecosystem functioning supported by a common dung beetle species. *PloS One*, 12, 8.

MAPA. (2018). Agricultura Ecológica Estadísticas 2018. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/prensa/ultimas-noticias/la-superficie-de-agricultura-ecol%C3%B3gica-aument%C3%B3-un-8--en-2018-y-se-situ%C3%B3-en-2.246.474-hect%C3%A1reas/tcm:30-512387

Marcelino, L.A., Mendoza-De-Gives, P., Torres-Hernández, G., López-Arellano, M., Becerril-Pérez, C., Orihuela, A., Torres-Acosta, J.F.D.J., & Olmedo-Juárez, A. (2016). Consumption of nutritional pellets with *Duddingtonia flagrans* fungal chlamydospores reduces infective nematode larvae of *Haemonchus contortus* in faeces of Saint Croix lambs. *Journal of Helminthology*, 91, 665-671.

Marley, C. L., Fraser, M. D., Roberts, J. E., Fychan, R., & Jones, R. (2006). Effects of legume forages on ovine gastrointestinal parasite development, migration and survival. *Veterinary Parasitology,* 138, 308-317.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Marquardt, W.C., Fritts, D.H., Senger, C.M., & Seghetti, L. (1959). The effect of weather on the development and survival of the free-living stages of *Nematodirus spatigher*. *Journal of Parasitology*, 45, 431-439.

Martin, R. J. (1997). Modes of action of anthelmintic drugs. *Veterinary Journal*, 154, 11-34.

Martínez Ortiz de Montellano, C., Vargas-Magaña, J.J., Aguilar-Caballero, A.J., Sandoval-Castro, C.A., Cob-Galera, L., May-Martínez, M., Miranda-Soberanis, R., Hoste, H., Cámara Sarmiento, R., & Torres-Acosta, J.F. (2007). Combining the effects of supplementary feeding and copper oxide needles for the control of gastrointestinal nematodes in browsing goats. *Veterinary Parasitology*, 146, 1-2, 66-76.

Martínez-Valladares, M., Robles-Pérez, D., Martínez-Pérez, J.M., Cordero-Pérez, C., Famularo, M.D.R., Fernández-Pato, N., González-Lanza, C., Castañón-Ordóñez, L., & Rojo-Vázquez, F.A. (2013a). Prevalence of gastrointestinal nematodes and *Fasciola hepatica* in sheep in the northwest of Spain: Relation to climatic conditions and/or man-made environmental modifications. *Parasites and Vectors*, 6, 282.

Martínez-Valladares, M., Martínez-Pérez, J.M., Robles-Pérez, D., Cordero-Pérez, C., Famularo, M.R., Fernández-Pato, N., Castañón-Ordóñez, L., & Rojo-Vázquez, F.A. (2013b). The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by *in vivo* and *in vitro* techniques. *Veterinary Parasitology*, 191, 177-181.

Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D.J., Martínez-Pérez, J.M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., & Rojo-Vázquez, F.A. (2015). Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in spain. *Veterinary Parasitology*, 211, 3-4, 228-233.

McKellar, Q.A., & Jackson, F. (2004). Veterinary anthelmintics: old and new. *Trends in Parasitology*, 20, 456-461.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

McMahon, C., Bartley, D., Edgar, H., Ellison, S., Barley, J., Malone, F., Hanna, R., Brennan, G., & Fairweather, I. (2013). Anthelmintic resistance in Northern Ireland (I): prevalence of resistance in ovine gastrointestinal nematodes, as determined through faecal egg couint reduction testing. *Veterinary Parasitolog*, 195, 122-130.

Meana-Mañes, A., y Rojo-Vázquez, F.A. (1999). Parasitosis del aparato digestivo: Tricoestrongilidosis y otras nematodosis. En: *Parasitología Veterinaria*. CoordinadoresCordero; Rojo. Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana: 237-253. ISBN 84-486-0236-6.

Mendoza-De-Gives, P., Zapata-Nieto, C., Liébano Hernández, E., López Arellano, M.E., Herrera-Rodríguez, D., & González Garduño, R. (2006). Biological control of gastrointestinal parasitic nematodes using *Duddingtonia flagrans* in sheep under natural conditions in Mexico. *Annals of New York Academy of Sciences*, 1081, 355-359.

Mendoza de Gives, P., López-Arellano, M.E., Aguilar-Marcelino, L., Olazarán-Jenkins, S., Reyes-Guerrero, D., Ramírez-Vargas, G., & Vega-Murillo, V.E. (2018). The nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* reduces the gastrointestinal parasitic nematode larvae population in faeces of orally treated calves maintained under tropical conditions-dose/response assessment. *Veterinary Parasitology*, 263, 66–72.

Meradi, S., Cabaret, J., & Bentounsi, B. (2016). Arrested development of abomasal trichostrongylid nematodes in lambs in a steppe environment (North-Eastern Algeria). *Parasite*, 23, 39.Meyer, D J, Coles, E H., & Rich, L J. (1995). Medicina de laboratorio Veterinária, Interpretação e Diagnóstico. Ed. Roca. São Paulo. 308 pp.

Mezo, M., González-Warleta, M., Castro-Hermida, J.A., Muiño, L. & Ubeira, F.M. (2011). Association between anti-*F. hepatica* antibody levels in milk and production losses in dairy cows. *Veterinary Parasitology*, 180, 3-4, 237-242.

Min, B.R., & Hart, S.P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*, 81.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Min, B.R., Pomroy, W.E., Hart, S.P., & Sahlu, T. (2004). The effect of short term consumption of a forage containing condensed tannins on gastro-intestinal nematode parasite infections in grazing wether goats. *Small Ruminant Research*, 51, 279-283.

Moazeni, M., Ansari-Lari, M., Masoodfar, M., Hosseinzadeh, S., & Mootabi Alavi, A. (2010). Lethal effect of high temperatures on the eggs of *Fasciola hepatica*. *Iran Journal Veterinary Research*. 11, 168–173.

Mondelaers, K., Van Huylenbroeck, G., & Aertsens, J. (2009). A meta-analysis of the differences in environmental impacts between organic and conventional farming. *British Food Journal*, 111.

Mondragón-Ancelmo, J., Olmedo-Juárez, A., Reyes-Guerrero, D. E., Ramírez-Vargas, G., Ariza-Román, A. E., López-Arellano, M. E., Gives, P. M., & Napolitano, F. (2019). Detection of Gastrointestinal Nematode Populations Resistant to Albendazole and Ivermectin in Sheep. Animals, 9, 10, 775.

Morales, G.A., y Pino de Morales, L. (2004). *Fasciola hepática* y *Distomatosis hepatica* bovina en Venezuela. I: Ciclo de vida, epidemiología y patogénesis. *Revista Digital CENIAP HOY*.

Morgan, E.R., & Coles, G.C. (2010). Nematode control practices on sheep farms following an infromation campaign aiming to delay anthelmintic resistance. *Veterinary Record*, 166, 301-303.

Morgan, E.R., & Van Dijk, J. (2012). Climate and the Epidemiology of Gastrointestinal Nematode Infections of Sheep in Europe. *Veterinary Parasitology*, 189, 1, 8-14.

Morrondo, P., Diaz, P., Pedreira, J., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suarez, J.L., Arias, M., & Diez-Baños, P. (2003). Digestive parasitosis affecting to the autochthonous rubia gallega cattle. *XI Congresso Internazionale della Federazione Mediterranea Sanità e Produzione Ruminanti (Fe.Me.S.P.Rum.)*, Olbia, Italy.

Morrondo, P., Díaz, P., Pedreira, J., Sanchez-Andrade, R., & Diez-Baños, P. (2005).Trematodosis prevalence in Rubia gallega cattle from diferent climatic areas. *XIII Congresso Internazionale della Federazione Mediterranea Sanità e Produzione Ruminanti (Fe.Me.S.P.Rum.)*, Bari, Italy.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Morrondo, P., Diaz, P., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., López, C., Arias, M., Paz-Silva A., & Díez-Baños, P. (2007). Influence of climatic and orographic factors on the infection by hepatic trematode *Dicrocoelium dentriticum* in semiextensive beef cattle from the north-west of Spain. *XV International Congress of Mediterranean Federation for Health and Productions of Ruminants*, Türkiye.

Mottier, L., & Lanusse, C. (2001). Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. *Revista de Medicina Veterinaria*, 82, 74-85.

Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the Conundrum of Tannins in Animal Nutrition and Health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 13.

Neira-Vielma, A.A., Aguilar, C.N., Ilyina, A., Contreras-Esquivel, J.C., Carneiro-da-Cunha, M.G., Michelena-Álvarez, G., & Martínez- Hernández, J.L. (2018). Optimized production of phytase by solidstate fermentation using triticale as substrate and source of inducer. *African Journal of Biotechnology*, 17, 81-90.

Niezen, J. H., Charleston, W.A., Hodgson, J., Mackay, A.D. & Leathwick, D.M. (1996). Controlling internal parasites in grazing ruminants without recourse to anthelmitics: approaches, experiences and prosprects. *International Journal Parasitology*, 26, 8-9, 983-992.

Niezen, J.H., Charleston, W.A., Robertson, H.A., Shelton, D., Waghorn, G.C., & Green, R. (2002). The effect of feeding sulla (*hedysarum coronarium*) or lucerne (*medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. *VeterinaryParasitology*, 105, 3, 229-245.

Niven, P., Anderson, N., & Vizard, A.L. (2002). Trichostrongylid infections in sheep after rainfall during summer in southern Australia. *Australian Veterinary Journal*, 80, 567-570.

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 environment. *Journal of veterinary medicine. Infectious diseases and veterinary public health*, 53, 439-444.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Nzalawahe, J., Hannah, R., Kassuku, A.A., Stothard, J.R., Coles, G., & Eisler, M.C. (2018). Evaluating the effectiveness of trematocides against *Fasciola gigantica* and amphistomes infections in cattle, using faecal egg count reduction tests in Iringa Rural and Arumeru Districts, Tanzania. *Parasites & vectors*, 11,1, 384.

O'Connor, L.J., Walkden-Brown, S.W., & Kahn, L.P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology*, 142, 1-2, 1-15.

Ojeda-Robertos, N.F., Mendoza de Gives, P., Torres-Acosta, J.F., Rodríguez-Vivas, R.I., & Aguilar-Caballero, A.J. (2005). Evaluating the effectiveness of a Mexican strain of *Duddingtonia flagrans* as a biological control agent against gastrointestinal nematodes in goat faeces. *Journal of Helminthology*, 79, 151-157.

Ojeda-Robertos, N.F., Torres-Acosta, J.F., Ayala-Burgos, A.J., Sandoval-Castro, C.A., Valero-Coss, R.O., & Mendoza-de-Gives, P. (2009). Digestibility of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores in ruminants: in vitro and in vivo studies. *BMC Veterinary Research*, 5, 46.

Olivares-Bernabéu, C.M., & López-Llorca, L.V. (2002). Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. *Revista Iberoamericana de Micología*, 19, 104-110.

Ortiz Pérez, D.O., Sánchez Muñoz, B., Nahed Toral, J., Orantes Zebadúa, M.Á, Cruz López, J.L., Reyes García, M.E., & Mendoza de Gives, P. (2017). Using *Duddingtonia Flagrans* in calves under an organic milk farm production system in the mexican tropics. *Experimental Parasitology*, 175, 74-78.

Otranto, D., & Traversa, D. (2002). A Review of Dicrocoeliosis of Ruminants Including Recent Advances in the Diagnosis and Treatment.*Veterinary Parasitology*, 107, 4, 317-335.

Palomero Salinero, A.M. (2015). Análisis de la eficacia de hongos frente a parásitos que afectan a la gallina ponedora. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Santiago de Compostela.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Palomero, A.M, Cazapal-Monteiro, C.F, Valderrábano, E., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., & Arias, M.S. (2020). Soil fungi enable the control of gastrointestinal nematodes in wild bovidae captive in a zoological park: a 4-year trial. *Parasitology*, 147, 7, 791-798.

Palomero, A. M., Cazapal-Monteiro, C. F., Viña, C., Hernández, JÁ, Voinot, M., Vilá, M., Silva, M. I., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., & Arias, M. (2021). Formulating fungal spores to prevent infection by trichostrongylids in a zoological park: Practical approaches to a persisting problem. *Biological Control*, 152.

Painceira, A. (2012). Prevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por endoparásitos en rumiantes domésticos y silvestres de la provincia de Lugo. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela.

Paolini, V., De La Farge, F., Prevot, F., Dorchies, P., & Hoste, H. (2005). Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 127, 3-4, 277-283.

Papadopoulos, E., Gallidis, E., & Ptochos, S. (2012). Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. *Veterinary Parasitology*, 189, 85-88.

Pato, F.J., Vázquez, L., Painceira, A., Díaz, P., Uriarte, J., Díez-Baños, N., Dacal, V., López, C., Panadero, R., Díez-Baños, P., & Morrondo, P. (2009a). Especies de nematodos gastrointestinales compartidas por corzos (*Capreolus capreolus*) y ganado vacuno en pastoreo en galicia. *Asociación interprofesional para el desarrollo agrario (AIDA)*, 1, 176-178.

Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Pedreira, J., Arias, M., López, C., Panadero, R., Díaz, P., Díez-Baños, P., & Morrondo, P. (2003). Prevalence of natural ovine fasciolosis shown by demonstrating the presence of serum circulating antigens. *Parasitology Research*, 91, 328-331.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Paz-Silva, A., Francisco, I., Valero-Coss, R.O., Cortiñas, F.J., Sánchez, J.A., Francisco, R., Arias, M., Suárez, J.L., López-Arellano, M.E., Sánchez-Andrade, R., & Mendoza de Gives, P. (2011). Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. *Veterinary Parasitology*, 179, 277-282.

Paz-Silva, A., Bonilla. R., Hernández, J.Á., Arroyo, F., Cazapal-Monteiro, C., Romasanta, Á., Francisco, I., Arias, M.S., Sánchez-Andrade, R. (2016). Spreading of Mucor *circinelloides* spores can aid to prevent *Trichuris* sp. infection in captive dromedaries (*Camelus dromedarius*). 12th European Multicolloquium of Parasitology. Türku, Finland.

Pedreira, J., Díaz, P., Suárez, J.L., Sánchez-Andrade, R., Panadero, R., Freiría, D., Paz, A., Díez Baños, P., & Morrondo, P. (2001b). Study of the helminth parasitism in sheep flocks in Galicia. IX International Congress of Mediterranian Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum.). León, España.

Pedreira García, J. (2006). Infecciones por tricostrongílidos en ovinos de la provincia de lugo. Estudios *in vivo* e *in vitro* sobre resistencias a bencimidazoles y lactonas macrocíclicas.Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

Pedreira, J., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J. L., Arias, M., Lomba, C., & Morrondo, P. (2006). Prevalences of gastrointestinal parasites in sheep and parasite-control practices in NW Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 75, 1-2, 56-62.

Pena-Espinoza, M., Thamsborg, S. M., Denwood, M. J., Drag, M., Hansen, T. V., Jensen, V. F., & Enemark, H. L. (2016). Efficacy of ivermectin against gastrointestinal nematodes of cattle in Denmark evaluated by different methods for analysis of faecal egg count reduction. International *Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 6, 3, 241-250.

Pezo, D.A. (2018). Establecimiento y Manejo de Sistemas Intensivos de Pastoreo Rotacional. Grupo Ganadería y Manejo del medio, 5-57.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Ponisio, L.C., Gonigle, L.K., Mace, K.C., Palomino, J., de Valpine, P., & Kremen, C. (2015). Diversification practices reduce organic to conventional yield gap. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282.

Power, C., Sayers, R., O'Brien, B., Clancy, C., Furey, A., Jordan, K., & Danaher, M. (2013). Investigation of the persistence of closantel residues in bovine milk following lactating-cow and dry-cow treatments and its migration into dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61.

Prasad, M., Sundaram, S. M., Gnanaraj, P. T., Bandeswaran, C., Harikrishnan, T. J., Sivakumar, T., &Azhahiannambi, P. (2019). Influence of intensive rearing, continuous and rotational grazing systems of management on parasitic load of lambs. *Veterinary world*, 12, 8.

Qian, H., Martin, J. & Robertson, A.P. (2006). Pharmacology of N-,L-, and B-subtypes of nematode nAChR resolved at the single-channel level in *Ascaris summ*. *The FASEB Journa*l, 20, 2606-2608.

Quiroz, H. (2011). Dicroceliosis. Capítulo 11. En: Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Editores: Quiroz, R.H. Figueroa, C.J.A., López, A.M.E. Editado por AMPAVE. pp. 477-504. ISBN: 978-607-00-4015-3.

Ramajo y Muro. (2000). Paramfistomosis. Parasitosis del aparato digestivo. Parasitología veterinaria / coord. por Miguel Cordero del Campillo, Francisco A. Rojo Vázquez, 2000, pp 195-259. ISBN 84-486-0236-6.

Rodríguez Rodríguez, M. (2018). Nuevas formulaciones para el control integrado de parásitos en mascotas. Traballo de Fin de Grao. Universidad de Santiago de Compostela.

Rojo, F.A. (1986). Epizootiología y control de las parasitosis gastrointestinales y hepáticas de los rumiantes. *One, Monografía de ovino*, 138-143.

Rojo, F.A. y Ferre, I. (1999). *Fasciolosis.* En: *Parasitología Veterinaria.* Ed. McGraw-Hill. Interamericana: 260-272. ISBN: 84-486-0236-6.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Rojo, F., Diez, P., y Morrondo, P. (2003). Dicroceliosis. Enfermedades parasitarias delganado ovino y caprino. Ediciones GEA, 175 pp. ISBN: 84-7287-056-1.

Rolfe, P.F., & Boray, J.C. (1993). Comparative efficacy of moxidectin, an ivermectin/clorsulon combination and closantel against immature paramphistomes in cattle. *Australian Veterinary Journal*, 70, 7, 265-6.

Römbke, J., Coors, A., Fernandez, Á.A., Förster, B., Fernández, C.S., Jensen, J.O., Lumaret, J., Cots, M.Á., & Liebig, M.A. (2010). Effects of the parasiticide ivermectin on the structure and function of dung and soil invertebrate communities in the field (Madrid, Spain). *Applied Soil Ecology*, *45*, 284-292.

Rose, J.H., & Small, A.J. (1984). Observations on the bionomics of the free-living stages of *Trichostrongylus vitrinus*. *Journal of Helminthology*, 58, 49-58.

Rufener, L., Mäser, P., Roditi, I., & Kaminsky, R. (2009b). *Haemonchus contortus* acetylcholine receptors of the DEG-3 subfamily and their role in sensitivity to monepantel. *PLoS Pathogens*, *5*.

Rufener, L., Keiser, J., Kaminsky, R., Mäser, P., & Nilsson, D. (2010). Phylogenomics of ligand-gated ion channels predicts monepantel effect. *PLoS Pathogens*, 6.

Sagüés, M.F, Purslow, P., Fernández, S., Fusé, L., Iglesias, L., & Saumell, C. (2011). Hongos nematófagos utilizados para el control biológico de nematodos gastrointestinales en el ganado y sus formas de administración. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 28, 143-7.

Sagües, M.F., Purslow, P., Fernández, A.S., Iglesias, L.E., Fusé, L.A., & Saumell, C.A. (2014). The use of soy protein polymers as a release device for nematophagous fungi in the control of parasitic nematodes in ruminants. *Journal of Helminthology*, 88, 511-514.

Salvatella y Eirale. (1996). Examen coproparasitario. Metodología y empleo. Revisión técnico metodológica. *Revista de medicina de Uruguay*. 12, 215-223.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Sánchez, J., Dohoo, I., Carrier, J., & DesCôteaux, L. (2004). A meta-analysis of the milk-production response after anthelmintic treatment in naturally infected adult dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 63, 3-4, 237-256.

Santurio, J.M., Zanette, R.A., Da Silva, A.S., De La Rue, M.L., Monteiro, S.G., & Alves, S.H. (2009). Improved method for *Duddingtonia flagrans* chlamydospores production for livestock use. *Veterinary Parasitology*. 164, 344-346.

Santurio, J.M., Zanette, R.A., Da Silva, A.S., Fanfa, V.R., Farret, M.H., Ragagnin, L., Hecktheuer, P.A., & Monteiro, SG. (2011). A suitable model for the utilization of *Duddingtonia flagrans* fungus in small-flock-size sheep farms. *Experimental Parasitology*, 127, 4, 727-31.

Sanyal, P.K., De, S., Sarkar, A.K., Patel, N.K., Mandal, S.C., & Pal, S. (2008). Isolation of egg parasitic fungi from Chhattisgarh. *Journal of Veterinary Parasitology*, 22, 1-3.

Sargison, N.D. (2011). Pharmaceutical control of endoparasitic helminth infections in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27, 139-156.

Saumell, C.A., Fernández, A.S., Echevarria, F., Gonçalves, I., Iglesiasm L., Sagües, M.F., & Rodríguez, E. (2016). Lack of negative effects of the biological control agent *Duddingtonia flagrans* on soil nematodes and other nematophagous fungi. *Journal of Helminthology*, 90, 706-711.

Sechi, S., Giobbe, M., Sanna, G., Casu S., Carta, A., & Scala, A. (2010). Effects of anthelmintic treatment on milk production in Sarda dairy ewes naturally infected by gastrointestinal nematodes. *Small Ruminant Researc*h, 88, 145-150.

Seyoum, Z., Demssie, Y., Bogale, B., & Melaki, A. (2017). Field evaluation of the efficacy of common anthelmintics used in the control of gastrointestinal nematodes of sheed in Dabat district, Northwest Ethiopia. *Irish veterinary journal*, 70, 18.

Silva, B.F., Amarante, M.R.V., Kadri, S.M., Carrijo-Mauad, J. R. & Amarante, A.F.T. (2008). Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. *Veterinary Parasitology*, 158, 85-92.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Skinner, W.D., & Todd, K.S. (1980). Lateral migration of *Haemonchus contortus* larvae on pasture. *American Journal of Veterinary Research*, 41, 395-398.

Skuce, P., & Fairweather, I. (1990). The effect of the hydrogen ionophore closantel upon the parmacology and ultrastructure of the adult liver fluke *Fasciola hepatica*. *Parasitology Research*, 76, 241-250.

Soli, F., Terrill, T., Shaik, S.; Getz, W., Miller, J., Vanguru, M., & Burke, J. (2010). Efficacy of copper oxide wire particles against gastrointestinal nematodes in sheep and goats. *Veterinary Parasitology*, 168, 93-96.

Stromberg, B.E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary parasitology*, 72, 247-264.

Stromberg, B.E., & Averbeck, G.A. (1999). The role of parasite epidemiology in the management of grazing cattle. *International Journal of Parasitology*, 29, 1, 33-9.

Suárez Sánchez-Andrade, J. (2017). Control biológico de parasitismos gastrointestinales en caballos. Tesis Doctoral, Universidade de Santiago de Compostela.

Sutherland, I. A., & Leathwick, D.M. (2011). Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: A global issue? *Trends in Parasitology*, 27, 4, 176-181.

Tarazona, J.M., Sanz-Pastor, A., Babin, M.M., Canals, A., Domínguez, T., Martín, M., & Trujillo, J. (1985). Problemas parasitarios de los rumiantes en pastoreo en la Meseta Meridional. En: Los parásitos de los rumiantes en pastoreo en España. Comun. INIA, 11, 63-69.

Thamsborg, S.M., & E.M., Hauge. (2001). Osteopenia and Reduced Serum Alkaline Phosphatase Activity in Grazing Lambs Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes. *Journal of Comparative Pathology*, 125, 2-3, 192-203.

Todd, K.S., Levine, N.D., & Boatman, P.A. (1976). Effect of temperatura on survival of free-living stages of *Haemonchus contortus*. *American Journal Veterinary Research*, 37, 991-992.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Torgerson, P., & Claxton, J. (1998). Epidemiology and control. In: Dalton, J.P. (Ed.), Fasciolosis. CABI Publishing, Oxon, UK, pp. 113-149.

Torrel-Pajares y Paz-Silva. (2015). Paramphistomosis en bovinos y ovinos en Cajamarca. 109 pp. Universidad Nacional de Cajamarca. ISBN: 978-612-4135-21-7.

Torres-Acosta, J.F.J. & Hoste, H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77, 159-173.

Tromba, F.G. (1978). Effect of ultraviolet radiation on the infective stages of *Ascaris suum* and *Stephanurus dentatus* with a comparison of the relative susceptibilities of some parasitic nematodes to ultraviolet. *Journal Parasitology*, 64, 245-252.

Tuomisto, H.L., Hodge, I.D., Riordan, P. & Macdonald, D.W. (2012). Does organic farming reduce environmental impacts? — A meta-analysis of European research. *Journal of Environmental Management*, 112, 309-320.

Uriarte, J, Valderrabano, J. y Uriarte, A. (2000). Perspectivas futuras en el control de los nematodos gastrointestinales de los rumiantes domesticos. *Albeitar*, 39, 12-14.

Valcárcel, F., García Romero, C., Corchero, J., Olmeda, A. S., & Rojo-Vázquez, F. A. (2002). Productos antiparasitarios. *Ovis*, 80.

van den Pol-van Dasselaar, A., Hennessy, D., & Isselstein, J. (2020). Grazing of Dairy Cows in Europe.An in-depth analysis based on the perception of grassland experts. *Sustainability*, 12, 1098.

van Dijk, J., David, G.P., Baird, G., & Morgan, E.R. (2008). Back to the future: Developing hypotheses on the effects of climate change on ovine parasitic gastroenteritis from historical data. *Veterinary Parasitology*, 158, 1-2, 73-84.

van Dijk, J., de Louw, M.D., Kalis, L.P., & Morgan, E.R. (2009). Ultraviolet light increases mortality of nematode larvae and can explain patterns of larval availability at pasture. *International Journal for Parasitology*, 39, 10, 1151-1156.

van Dijk, J. & E. R. Morgan. (2011). The Influence of Water on the Migration of Infective Trichostrongyloid Larvae on to Grass. *Parasitology*, 138, 6, 780-788.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

van Wyk, J.A., & Mayhew, E. (2013). Morphological Identification of Parasitic Nematode Infective Larvae of Small Ruminants and Cattle: A Practical Lab Guide. Onderstepoort *Journal of Veterinary Researc*h, 80, 1-14.

Vázquez, L., Dacal, V., Cienfuegos, S., Díaz, P., Lago, N., Panadero, R., Fernández, G., Morrondo, P., & López, C. (2008). Ocurrence of trematode eggs from Galicia (N.W. Spain). XVI International Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum). Zadar (Croacia).

Vázquez Rodríguez, L. (2016). Prevalencia de nematodos gastrointestinales y broncopulmonares en pequeños rumiantes mantenidos en intensivo en Galicia. Trabajo Fin de Grado. Universidade de Santiago de Compostela.

Vercruysse, J., & Claerebout, E. (2001). Treatment vs Non-Treatment of Helminth Infections in Cattle: Defining the Threshold. *Veterinary Parasitology*, 98, 1-3, 195-214.

Verdú, J. R., Lobo, J. M., Sánchez-Piñero, F., Gallego, B., Numa, C., Lumaret, J., & Durán, J. (2018). Ivermectin residues disrupt dung beetle diversity, soil properties and ecosystem functioning: An interdisciplinary field study. *Science of the Total Environment,* 618, 219-228.

Veneziano, V., Rubino, R., Fedele, V., Rinaldi, L., Santaniello, M., Schioppi, M., Cascone, C., Pizzillo, M., & Cringoli, G. (2004). The effects of five anthelmintic treatment regimes on milk production in goats naturally infected by gastrointestinal nematodes. *South African Journal Of Animal Science*. 34. 238-240.

Vilela, V., Feitosa, T.F., Braga, F.R., Vieira, V.D., Lucena, S. C., & Araújo, J.V. (2018). Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology*: Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria, 27, 1, 27–32.

Viña, C., Silva, M. I., Palomero, A. M., Voinot, M., Vilá, M., Hernández, J. Á., & Arias, M.S. (2020). The Control of Zoonotic Soil-Transmitted Helminthoses Using Saprophytic Fungi. *Pathogens*, 9, 12, 1071.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Waghorn, G. (2008). Beneficial and Detrimental Effects of Dietary Condensed Tannins for Sustainable Sheep and Goat Production—Progress and Challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 1-3, 116-139.

Waller, P.J. (1997). Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, 72, 3-4, 391-405.

Waller, P.J., Faedo, M., & Ellis, K. (2001a). The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: towards the development of a fungal controlled release device. *Veterinary Parasitology*, 102, 299-308.

Waller, P.J, Ljungström, B.L, Schwan, O., Martin, L.R., Morrison, D.A., & Rydzik, A. (2006). Biological control of sheep parasites using *Duddingtonia flagrans*: trials on commercial farms in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 47, 23-32.

Wardhaugh, K.G., Holter, P., Whitby, W.A., & Shelley, K. (1996). Effects of drug residues in the faeces of cattle treated with injectable formulations of ivermectin and moxidectin on larvae of the bush fly, *Musca vetustissima*, and the house fly, *Musca domestica*. *Australian Veterinary Journal*, 74, 370-374.

Webb, L., Beaumont, D.J., Nager, R.G., & McCracken, D.I. (2010). Field-scale dispersal of Aphodius dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in response to avermectin treatments on pastured cattle. *Bulletin of Entomological Research*, 100, 2, 175-183.

Whelan, M., Chirollo, C., Furey, A., Cortesi, M. L., Anastasio, A., & Danaher, M. (2010). Investigation of the persistence of levamisole and oxyclozanide in milk and fate in cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 23.

Whittaker, J.H., Carlson, S.A., Jones, D.E., & Brewer, M.T. (2016). Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematore parasites of veterinary importance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 40, 105-115.

Yang, J., & Zhang, KQ. (2014). Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Nematophagous Fungi. In: Zhang, KQ., Hyde, K. (eds) Nematode-TrappingFungi. Fungal Diversity Research Series, vol 23. Springer, Dordrecht.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

10. ANEXOS

1. Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi.

2. Safety of daily administration of pellets containing parasiticidal fungal spores over a long period of time heifers.

3. Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasiticidal Fungal Spores.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1. Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi.

Se realizaron dos estudios a lo largo de dos años sobre el control integrado de las helmintosis empleando 32 vacas de raza frisona, las cuales eliminaban huevos de *C. daubneyi* y NGI y que se encontraban bajo un régimen de pastoreo de líderes y seguidoras. El primer año se estudió el efecto del pastoreo bajo el sistema de líderes formado por vacas en lactación (G-L1) y seguidoras compuesto por vacas en secado y novillas (G-F1). Ambos grupos fueron suplementados a diario con pellets nutricionales. El segundo año el grupo líder (G-L2) recibió pellets a diario y las novillas pellets con una combinación de dos especies de hongos parasiticidas ($3x10^5$clamidoesporas de *M.circinelloides* y *D.flagrans*/kg pellet). Al inicio del periodo de secado en cada ensayo se desparasitaron las vacas con closantel y albendazol obteniendo 14 días post-desparasitación una reducción del FECR de *C. daubenyi* y NGI de un 94 y100% respectivamente (promedio de 98%) siendo el porcentaje de reducción CPCR de un 50- y 100% respectivamente (promedio de 77% y 82%). En cuanto a las novillas estas fueron desparasitados al inicio de cada ensayo y los valores de FECR Y CPCR fueron 100% para *C. daubneyi* y para los NGI 96% y 83%. Durante un periodo de 24 meses se observó que la eliminación de huevos de helmintos era más elevada en el G-L1 que en el G-F1. El recuento de huevos de *C. daubneyi* se redujo un 5 % en el G-L1 y un 42 % en el G-F1 al final del primer año y un 83 % en el G-L2 y 100 % en el G-F2 al final del segundo estudio. En cuanto a los NGI se obtuvo una disminución de su eliminación de un 13 % para el G-L1 y de un 18 para el G-F1 en el primer ensayo y al final del segundo un 72 % en el G-L2 y de un 85 % para el G-F2. Ningún efecto adverso se detecto en el ganado vacuno que ingirió los pellets que contenían la mezcla de esporas de hongos parasiticidas. Se concluyó que, la ingesta durante un largo periodo de tiempo de esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*es es una herramienta eficaz para mejorar el efecto del pastoreo rotacional y obtener una disminución en el recuento de huevos de *C. daubneyi* y NGI.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Información revista:

Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi

Mathilde Voinot[a], Cristiana Cazapal-Monteiro[a], José Ángel Hernández[a], Antonio Miguel Palomero[a], Fabián Leonardo Arroyo[a], Jaime Sanchís[b], José Pedreira[c], Rita Sánchez-Andrade[a], Adolfo Paz-Silva[a,*], María Sol Arias[a]

a. Control of Parasites Group (COPAR, GI-2120), Animal Pathology Department, Veterinary Faculty, Santiago de Compostela University, 27002, Lugo, Spain.
b. Parasitic Diseases, Veterinary Faculty, University of "La República (Regional Norte)", 50000, Salto, Uruguay.
c. Fatro Ibérica SL, 08960, Barcelona, Spain.

Revista: Veterinary Paristology

Fecha de publicación: 27 de enero de 2020

Enlace: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109038

Editorial: Elsevier B.V. Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands.

ISSN: 0304-4017

Índices de calidad de la revista

Factor de impacto (2020): 2,821

Factor de impacto de 5 años: 1, 754

Categoría (2020): Q1, Veterinary Sciences; Q2, Parasitology.

Contribución del doctorando

Mathilde Voinot participó en la toma de muestras y su análisis, preparación de las figuras y redacción del manuscrito.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Autorización de la revista/editorial

Contenido reproducido con permiso:



Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi

Author:
Mathilde Voinot,Cristiana Cazapal-Monteiro,José Ángel Hernández,Antonio Miguel Palomero,Fabián Leonardo Arroyo,Jaime Sanchís,José Pedreira,Rita Sánchez-Andrade,Adolfo Paz-Silva,María Sol Arias

Publication: Veterinary Parasitology

Publisher: Elsevier

Date: February 2020

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

2. Safety of daily administration of pellets containing parasiticidal fungal spores over a long period of time in heifers.

En novillas en pastoreo se probó la inocuidad de la ingestión prolongada de pellets que contenían una mezcla de *M. circinelloides* y *D. flagrans*. A lo largo de dos años el grupo (G-F) recibió diariamente 2,5 kg de pellets que contenían $3x10^5$/kg pellets mientras que el grupo G-C obtuvo solo pellets. Mensualmente se evaluaban los parámetros de los glóbulos rojos y blancos. Además se observó si se producían alteraciones de la actividad digestiva, respiratoria y reproductiva. Se realizó la necropsia a tres novillas del grupo G-F en el segundo año de estudio y cuatro en el tercer año. Las muestras recogidas de los diferentes tejidos y órganos se conservaron en formalina al 10%, y algunas secciones fueron teñidas con hematoxilina y eosina y con ácido periódico de Schiff y Fontana-Mason y con Ziehl-Neelsen. Durante los dos primero años se obtuvieron recuentos normales de RBC y WBC en el grupo G-F y valores de RBC y HB por debajo de los valores fisiológicos en el G-C. Ninguna diferencia entres ambos grupos fue obtenida en el tercer año, con recuentos RBC y HB más bajos de lo normal. Además no se encontraron estructuras fúngicas ni lesiones relacionadas con la ingesta de hongos, en los tejidos del grupo G-F. Por lo que se concluyó que la ingestión diaria de pellets que contenían esporas de hongos parasiticidas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* durante un periodo de tiempo largo es completamente segura.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Información revista:

Safety of daily administration of pellets containing parasiticidal fungal spores over a long periodof time in heifers

M. Voinot[a], F. Arroyo[a*], J. Á. Hernández[a], A. Paz-Silva[a], R. Sánchez-Andrade[a], R. Bermúdez[b], J. Guillot[c], L. M. Madeira de Carvalho[d], M. S. Arias[a] and C. F. Cazapal-Monteiro[a]

a. Control of Parasites Research Group (COPAR, GI-2120), Department of Animal Pathology, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, Lugo, Spain.
b. GAPAVET Group of Research in Animal Pathology, Department of Anatomy, Animal Production and Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, Lugo, Spain.
c. Parasitology Department, Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation, Nantes, France.
d. CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, Lisboa, Portugal

Revista: Biocontrol Sciences and Technology

Fecha de publicación: 19 de diciembre de 2021

Enlace: https://doi.org/10.1080/09583157.2021.2008317

Editorial: Taylor & Francis Grou, 2-4 Park Square, Milton Park, Abingdon OR14 4RN, Oxon, England

ISSN: 0958-3157

Índices de calidad de la revista

Factor de impacto (2021): 1,810

Factor de impacto de 5 años (2021): 1,595

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Categoría (2021): Q2, Entomology; Q4, Biotechnology & Applied Microbiology.

Contribución del doctorando

Mathilde Voinot participó en los experimentos, análisis de datos, preparación de las figuras y redacción del manuscrito.

Autorización de la revista/editorial


Safety of daily administration of pellets containing parasiticidal fungal spores over a long period of time in heifers

Author: M. Voinot, , F. Arroyo, et al

Publication: Biocontrol Science and Technology

Publisher: Taylor & Francis

Date: Dec 19, 2021

Rights managed by Taylor & Francis

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasiticidal Fungal Spores.

El empleo de hongos parasiticidas en ensayos *in vivo* en animales de abasto ha demostrado ser una herramienta eficaz para el control de parásitos gastrointestinales. Durante el primer año de estudio, dos grupos de ocho corderas infectadas por estrongílos fueron desparasitadas con albendazol. Posteriormente, el grupo tratado (FS1) recibió una dosis oral de 10^6clamidoesporas de *M. circinelloides*y 10^6 de *D. flagrans* individualmente tres veces por semana desde mediados de septiembre hasta mayo mientras que el grupo control (CT1) no recibió nada. El segundo año se emplearon otros dos nuevos grupos de corderas que fueron desparasitadas con ivermectina empleando el mismo diseño experimental (FS2 y CT2). La eficacia antihelmíntica fue de 96,6% (CT1), 95,6% (FS1), 96,1 % (CT2), y 95,1% (FS2). En los grupos control (CT1 y CT2) se produjo un aumento en el recuento de huevos de estrongílidos a lo largo de todo el estudio, alcanzando cifras por encima de los 600 hpg siendo > 250 hpg en los FS1 y FS2. En cuanto a los valores de los glóbulos rojos en los grupos CT1 y CT2 fueron menores a los valores estándar y en los grupos FS1 y FS2 se obtuvieron resultados dentro del rango fisiológico. Se pudo concluir que la acción integrada de una desparasitación eficaz y un método de pastoreo rotacional junto a una ingesta regular de clamidoesporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*, proporciona una estrategia valida que permite mantener un recuento bajo de huevos de estrongílidos en corderas en pastoreo provocando un mejor estado de salud.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Información revista:

Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasiticidal Fungal Spores

Mathilde Voinot[1], Rodrigo Bonilla [2], Sérgio Sousa [3,4], Jaime Sanchís [5], Miguel Canhão-Dias[4,6], José Romero Delgado [7], João Lozano [4], Rita Sánchez-Andrade [1], María Sol Arias [1]and Luís Madeira de Carvalho [4,*]

1. Control of Parasites Research Group (COPAR, GI-2120), Departmentof Animal Pathology, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, 27142 Lugo, Spain; mat.vmei@gmail.com (M.V.); rita.sanchez-andrade@usc.es (R.S.-A.); mariasol.arias@usc.es (M.S.A.)
2. CARVAL Pharmaceuticals, Bogotá 110211, Colombia; rodrigo.bonilla@carval.com.co
3. Vasco da Gama Research Centre (CIVG), Department of Veterinary Sciences, Vasco da Gama University School, Avenida José R. Sousa Fernandes 197 Lordemão, 3020-210 Coimbra, Portugal; ramalhosousa@gmail.com
4. CIISA—Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal; miguel.dias.20@ucl.ac.uk (M.C.-D.); jlozano@fmv.ulisboa.pt (J.L.)
5. Parasitic Diseases, Veterinary Faculty, University of "La República (Regional Norte)", Salto 50000, Uruguay; sanchisjaime@gmail.com
6. Department of Geography, University College London, London WC1E 6BT, UK
7. Veterinary Inspection, San Cristóbal de La Laguna City Hall, 38201 La Laguna, Spain; Jaromdel@lalaguna.es
* Correspondence: madeiradecarvalho@fmv.ulisboa.pt; Tel.:00351 213602039

Revista: Pathogens

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Fecha de publicación: 17 de octubre de 2021

Enlace: https://doi.org/10.3390/pathogens10101338

Editorial: MDPI, St Alaban-Anlage 66, CH-4052 Basel, Switzerland

ISSN: 2076-0817

Índices de calidad de la revista

Factor de impacto (2021): 4.531

Factor de impacto de 5 años (2021): 4,580

Categoría (2021): Q2

Contribución del doctorando

Mathilde Voinot participó en el diseño de la investigación, preparación de material, toma de muestras y análisis laboratorial, procesamiento de datos y validación de las fuentes bibliográficas.

Autorización de la revista/editorial

Contenido reproducido con permiso:

Copyright© 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

El pastoreo en extensivo que forma parte de la ganadería ecológica incrementa el riesgo de los animales de padecer enfermedades parasitarias. El uso indiscriminado de antihelmínticos ha generado ciertos problemas entre los cuales se encuentra la aparición de resistencias.
Así mismo, la estricta normativa que engloba el sector ecológico limita estrictamente el uso de estos fármacos, por lo que en los últimos años han surgido medidas alternativas que permitan reducir la carga parasitaria presente en el suelo disminuyendo el riesgo de infección de los animales.
El control biológico empleando hongos parasiticidas es actualmente, una herramienta útil en la lucha contra las formas parasitarias presentes en el medio. En esta tesis se ha querido demostrar su eficacia aplicando este método en dos explotaciones ganaderas