

RESISTENCIA A LOS  
**ANTIHELMÍNTICOS**  
EN NEMATODOS DE RUMIANTES Y  
ESTRATEGIAS PARA SU CONTROL

*Dildo Márquez Lara\**

Bogotá, octubre de 2007



© Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica  
y Colciencias

ISBN: 978-958-8311-64-7

Código Único Interno: 158

Tiraje:

Producción editorial

Impresión y encuadernación



<http://www.produmédios.com>

Tel.: 2 885 338 - Bogotá, DC.

Diseño: *Dannhtte*

Impreso en Colombia

Printed in Colombia

---

# Presentación

**E**l parasitismo interno de los bovinos es considerado un factor que limita la producción de los animales y la productividad en los sistemas de producción ganaderos de Colombia. Este problema se agrava cuando las prácticas de prevención y control son poco efectivas debido a la carencia de enfoques técnicos tanto de los veterinarios asistentes técnicos como de los ganaderos, como ocurre en Colombia, lo cual, aunado a otros factores propios de los sistemas de producción, contribuye a un aumento en la carga parasitaria de los animales, y por tanto, a la ocurrencia de enfermedades y disminución de la productividad en los sistemas reproducción.

Para enfrentar el problema, los ganaderos han usado las sustancias químicas (antihelmínticos), como el único medio de control parasitario, los cuales son generalmente utilizados de manera intensiva e incorrecta, lo que ha conducido al surgimiento de resistencia en las poblaciones de estos parásitos a la mayor parte de los principios activos disponibles comercialmente para el control de los endoparásitos del ganado, con el consecuente incremento del problema de parásitos en las fincas ganaderas.

La resistencia a los antihelmínticos se está extendiendo en el mundo, constituyendo un problema que preocupa, debido a que complica cada vez más el control de muchas especies de parásitos gastrointestinales en los rumiantes, particularmente en la ganadería bovina. Si bien la mayor parte de los casos de resistencia se presenta en la especie ovina, se conocen actualmente reportes que informan sobre la presencia de resistencia en los nematodos gastrointestinales de bovinos en diferentes países, siendo Colombia uno de ellos.

El surgimiento de la resistencia a los antihelmínticos en Colombia es ya un amenaza real para los ingresos económicos de los ganaderos y la salud de los animales, por lo que se sugiere que el control parasitario debe enfocarse desde una perspectiva ambiental, haciendo uso de criterios técnicos y explorando alternativas que involucren prácticas y técnicas que conduzcan a procesos y esquemas sostenibles, enmarcados en esquemas de Control Integrado

de Parásitos (CIP), con el objeto de minimizar el impacto de la resistencia a los antihelmínticos.

La presente publicación constituye uno de los productos obtenidos en el marco del desarrollo del proyecto “Determinación de la resistencia a los antihelmínticos y factores de riesgo asociados a su presentación en nematodos de bovinos del sistema de producción de leche en la Sabana de Bogotá, Valles de Ubaté y Chiquinquirá y Alto de Chicamocha”, desarrollado durante tres años por los investigadores Dildo Márquez Lara, Gabriel Jiménez Pallares, Fredy García Castro y Clara Garzón Almanza, del Grupo de Investigación e Innovación en Salud Animal de CORPOICA-CEISA, con cofinanciación por parte de COLCIENCIAS.

La obra presenta el estado actual de esta problemática en el mundo, los factores que favorecen su desarrollo y extensión en los predios, así como las distintas estrategias que se recomiendan para su control y para retardar su inevitable aparición en los sistemas de producción ganaderos que basan sus sistemas de control de parásitos únicamente en el empleo de estos principios activos. Por su importancia, por su relación con el tema de la resistencia y por ser una estrategia considerada promisoriosa, se presenta igualmente el estado actual del conocimiento relacionado con el control biológico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes.

DIEGO ARISTIZÁBAL QUINTERO  
Director CI, Tibaitatá - Ceisa

# Contenido

<b>Presentación</b>	3
<b>Contenido</b>	5
<b>Introducción</b>	7
<b>Capítulo I. Alternativas químicas de control de nematodos: los antihelmínticos</b>	9
MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIHELMÍNTICOS	15
IMIDAZOTIAZOLES Y TETRAHIDROPIRIMIDINAS	15
IMPACTO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS EN LAS PRADERAS	22
EL DESARROLLO DE NUEVOS ANTIPARASITARIOS	25
CONCLUSIONES	26
<b>Bibliografía</b>	27
<b>Capítulo II. Resistencia a los antihelmínticos en rumiantes y estrategias para su control</b>	29
<b>Historia y prevalencia de la resistencia</b>	31
SITUACIÓN OVINA Y CAPRINA	31
SITUACIÓN BOVINA	34
SITUACIÓN EN EQUINOS	44
ORIGEN DE LA RESISTENCIA	45
ASPECTOS GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA	49
MANEJO DE LA PRESIÓN DE SELECCIÓN	53
FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL DESARROLLO Y EXTENSIÓN DE LA RESISTENCIA	54
ETAPAS DE LA RESISTENCIA	76
MECANISMOS DE RESISTENCIA	78
REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA	86
IMPLICACIONES DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA	87
CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS	89
DIAGNÓSTICO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS	99
RECOMENDACIONES PARA UN MEJOR USO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS	113
RECOMENDACIONES	115
<b>Bibliografía</b>	116

<b>Capítulo III. Alternativas no químicas de control: el control biológico</b>	123
CONTROL BIOLÓGICO	126
CONCLUSIONES	134
<b>Bibliografía</b>	136
<b>Anexos</b>	139
<b>Guía de procedimientos</b>	141
DETECCIÓN DE RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS EN RUMIANTES	141
PRUEBAS IN VIVO	141
PRUEBAS IN VITRO	156
<b>Apéndice de planillas</b>	162
PLANILLA DE PRIMER MUESTREO	162
PLANILLA DE TRATAMIENTO	163
PLANILLA DE SEGUNDO MUESTREO (14 días post-tratamiento)	164

# Introducción

Las infecciones por parasitismo gastrointestinal afectan la salud de los rumiantes y repercuten en la productividad de los sistemas de producción ganaderos. En el ganado, estas infecciones se reflejan en baja conversión alimenticia, pérdida del apetito y retraso en el crecimiento de estos animales, lo que se traduce en pérdidas económicas.

Los productores han usado por lo general compuestos químicos para el control de estos endoparásitos, estrategia que ha tenido las ventajas de ser económica, eficaz y de fácil aplicación, pero, al mismo tiempo, posee la desventaja de su incapacidad para prevenir o controlar en las poblaciones parasitarias el desarrollo de resistencia a estas sustancias químicas. El hecho de que existan drogas de gran eficacia y que sean complicados los métodos no químicos de control facilita el abuso de las drogas por parte de los productores, dando como resultado la aparición de resistencia para la mayoría de los principios activos empleados en el mundo, situación que se ha tornado insostenible económica y ambientalmente y se complica en la actualidad por la inexistencia de una alternativa sostenible al control químico de los helmintos parásitos del ganado.

Lo anterior se agrava, si se tiene en cuenta que la disponibilidad comercial de nuevos antiparasitarios está comprometida por la aparición de resistencia y por los costos cada vez mayores de la investigación y el desarrollo de nuevas moléculas antihelmínticas.

En las poblaciones de nematodos gastrointestinales de rumiantes, muchos de los endoparásitos propios de estas especies tienen características genéticas que favorecen en ellos el desarrollo de resistencia a estas sustancias químicas. Entre las más importantes figuran la rápida tasa de evolución de la secuencia de nucleótidos y el formidable tamaño de las poblaciones de parásitos, lo que les confiere un excepcional nivel alto de diversidad genética.

La resistencia se ha definido como la disminución de la eficacia de un compuesto químico contra una población de parásitos que, por lo general, es sen-

sible a esa droga. Es de naturaleza genética. En la actualidad, la resistencia es un problema preocupante, que ha superado el interés académico para convertirse en un problema de vital importancia para la industria ganadera de muchas regiones del mundo y para la medicina veterinaria en general, pues se ha extendido de manera alarmante en la última década. La mayor prevalencia de resistencia en el mundo se presenta en las especies ovina y caprina y, aunque existe también en nematodos de bovinos, aún no es severa en éstos.

Esto constituye un amenaza real para los ingresos económicos de los ganaderos y la salud de los animales, por lo que se sugiere que el control parasitario se enfoque desde una perspectiva ambiental, haciendo uso de criterios técnicos y explorando alternativas que involucren prácticas y técnicas que lleven a procesos y esquemas sostenibles, enmarcados en esquemas de Control Integrado de Parásitos (CIP), para así minimizar el impacto de la resistencia a los antihelmínticos. Esto exige un mayor conocimiento sobre aspectos relacionados con la biología de estos parásitos, sobre la forma como llegan a ser resistentes y sobre los medios alternativos de control.

Los tratamientos frecuentes, las subdosificaciones, el tamaño de la población de parásitos 'en refugio' y las rotaciones inadecuadas de los compuestos químicos son los factores que comúnmente se asocian con el origen y la evolución de la resistencia.

La detección temprana de la resistencia antihelmíntica es un factor clave, en la medida en que obliga a a que se implementen esquemas para el control adecuado de endoparásitos, lo que implicará prácticas que, entre otras, conduzcan a preservar la eficacia y la vida útil de estas sustancias químicas. En esta dirección, se han desarrollado diferentes técnicas, tanto *in vitro* como *in vivo*, para el diagnóstico de la resistencia a los antihelmínticos.

Esta publicación presenta el estado actual de este problema en el mundo, los factores que favorecen su desarrollo y la extensión en los predios, así como las distintas estrategias que se recomiendan para su control y para retardar su inevitable aparición en los sistemas de producción ganaderos que basan sus sistemas de control de parásitos únicamente en el empleo de estos principios activos. Por su importancia, por su relación con el tema de la resistencia y por ser una estrategia considerada promisoría, se presenta igualmente el estado actual del conocimiento relacionado con el control biológico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes.



# Capítulo I

**Alternativas químicas de control  
de nematodos: los antihelmínticos**

---



Los antihelmínticos constituyen en la actualidad el principal método de control de los nematodos de rumiantes en el mundo, con una gran importancia en la industria farmacéutica veterinaria, por el enorme crecimiento que ha tenido el mercado de estos medicamentos desde la década de los setentas.

La mayoría de estos compuestos son altamente efectivos y selectivos en el control de los endoparásitos; deben ser usados y elegidos adecuadamente, con base en criterios técnicos, con el fin de obtener respuestas clínicas favorables y, de paso, minimizar la selección para resistencia a estos fármacos. Además, estos medicamentos se caracterizan por su amplio margen de seguridad, amplio espectro y ser considerablemente activos contra las formas inmaduras y maduras de los parásitos. Sin embargo, el efecto antiparasitario de estos compuestos es muchas veces limitado por la eficacia intrínseca de los compuestos, sus propiedades farmacocinéticas, las características de los animales y de los parásitos y por la presencia de resistencia en los parásitos a estos principios activos.

Los siguientes factores, relacionados con el hospedador y el parásito, deben tenerse en cuenta al emplearse los antihelmínticos:

- **Especie y raza:** son dos factores importantes a tener en cuenta en el momento de seleccionar un antiparasitario, pues en algunas razas de animales, particularmente en caninos, están contraindicados algunos medicamentos. Lo mismo ocurre con las especies, ya que algunas requieren ajustes apropiados de las dosis de las drogas.
- **Edad de los animales:** este factor se relaciona más con la madurez del sistema enzimático de los animales.
- **Carga parasitaria del hospedador:** se debe tener cuidado especial cuando los animales tengan cargas parasitarias altas y estén debilitados, ya que la muerte simultánea de altas cantidades de endoparásitos puede conllevar

consecuencias desagradables en el animal, como obstrucciones en la luz intestinal o en los vasos sanguíneos.

- **Peso:** es un factor de importancia porque constituye la base para la dosificación de los fármacos, evitándose así las subdosificaciones que pueden contribuir a la selección de resistencia.
- **Estado fisiopatológico del animal:** debe tenerse en cuenta y se debe evitar, por ejemplo, el uso de medicamentos que pueden traer con posibles consecuencias indeseables en la descendencia, como es el caso de los posibles efectos teratogénicos de algunas drogas.
- **Parásito:** sitio de localización en el cuerpo del hospedador, estado de hipobiosis y si ha desarrollado resistencia.

Un antihelmíntico deseable debe poseer las siguientes características:

- **Eficiencia:** el espectro de actividad debe ser amplio y que elimine un porcentaje alto de parásitos, atacando todas las fases de su ciclo vital. Generalmente se acepta como eficiencia recomendada a aquella que elimina 95% de los parásitos, mientras que un producto se considera de baja eficacia cuando el porcentaje de eliminación de parásitos es inferior a 75%.
- **Ausencia de efectos colaterales:** la poca selectividad de algunos antiparasitarios hace que actúen sobre células del hospedador.
- **Baja o nula toxicidad para el hospedador y el medio ambiente.**
- **Ausencia de residuos en los productos de origen animal.**
- **Varias vías de administración.**
- **Fácil administración.**
- **Índice terapéutico alto.**
- **Económico, o de bajo costo.**

En general, el suministro de antihelmínticos debe hacerse buscando dos objetivos:

- **Eliminar el agente o mantener las cargas parasitarias de los hospedadores en niveles tolerables, para que no produzcan pérdidas económicas.**

- Prevenir la reinfección o reinfecciones de los animales.

Los antihelmínticos tienen diferentes vías de administración:

- Parenteral: puede ser intramuscular (IM) o subcutánea (SC).
- Intrarruminal: esta vía se usa sólo en bovinos, ya que en otras especies existe el riesgo del desarrollo de peritonitis.
- Oral: es empleada en la mayor parte de los animales domésticos.

**Tabla 1.** Antihelmínticos de amplio y corto espectro para el control de nematodos en rumiantes.

AMPLIO ESPECTRO			
Mecanismo de acción	Familia	Principio activo	
Fijadores de tubulina	Benzimidazoles	Cambendazol Flubendazol Albendazol Fenbendazol Oxfendazol Mebendazol Tiabendazol Parbendazol	
	Probenzimidazoles	Febantel Tiofanato Netobimin	Levamisol
Bloqueadores ganglionares	Imidazotiazoles	Tetramisol	
	Tetrahidropirimidinas	Morantel	Pirantel
Potenciadores GABA	Avermectinas	Ivermectina Abamectina	Doramectina
	Milbemicinas	Moxidectin	
CORTO ESPECTRO			
Desacopladores de la fosforilación oxidativa	Salicilanilidas	Cloxanida Oxicloxanida Rafoxanida Closantel	
	Sustitutos nitrofenílicos	Nitroxinil	
		Disofenol	
Antagonistas de la acetilcolinesterasa	Organofosforados	Triclorfón Haloxon Naftalofos Diclorvos	

Fuente: modificado de Echevarría, 1996.

- Percutánea o transcutánea: por esta vía se usan los fármacos que contienen un vehículo especial para facilitar la absorción de la droga a través de la piel. Estos antiparasitarios permiten tratar un gran número de animales, por la facilidad de su administración.
- Bolos: son antiparasitarios en forma de comprimido protegido que permite la liberación lenta del fármaco en el rumen.

Existen varios antihelmínticos disponibles en el mercado farmacéutico para el control de los parásitos nematodos localizados en el tracto gastrointestinal de diferentes especies de animales domésticos (tabla 1); de ellos, las avermectinas, los benzimidazoles y los agonistas nicotínicos son los tres grupos de antihelmínticos más usados en rumiantes. Los preparados disponibles comercialmente pertenecen a cinco grupos o familias (tabla 2).

**Tabla 2.** Grupos de antihelmínticos y preparados disponibles en el mercado.

<b>Grupo de antihelmínticos</b>	<b>Fármacos disponibles</b>
Imidazotiazoles	Levamisol Tetramisol
Tetrahidropirimidinas	Morantel Pirantel
Benzimidazoles	Tiabendazol Fenbendazol Albendazol Oxfendazol Parbendazol Cambendazol Mebendazol Lufendazol Luxabendazol Triclabendazol Probenzimidazoles (tiofanato, febantel y netobimin)
Salicilanilidas	Oxiclosanida Rafoxanida Closantel Niclosanida
Lactonas macrocíclicas	Milbemicinas Avermectinas (abamectina, doramectina y moxidectina)

## MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIHELMÍNTICOS

Los antihelmínticos deben ser tóxicos selectivamente para los parásitos, mas no para los hospedadores, lo que puede lograrse por dos vías: por una parte, inhibiendo procesos metabólicos que sean vitales para los parásitos, pero no para los hospedadores, y por otra, que las propiedades farmacocinéticas de los antihelmínticos logren exponer a los parásitos a concentraciones más altas que las células del hospedador. El resultado de las acciones anteriores es la interferencia que se produce en la integridad de las células de los parásitos, en la coordinación neuromuscular o en los mecanismos protectores o de evasión contra la respuesta inmunitaria del hospedador; fenómenos que conducen a inanición, parálisis y muerte del parásito.

En cuanto a la integridad celular, varios antihelmínticos producen fallas o daños en la integridad de la estructura de las células o en el metabolismo, así: a) inhibidores de la polimerización de la tubulina, como los benzimidazoles o probenzimidazoles; b) desacopladores de la fosforilación oxidativa, como las salicilanilidas o los sustitutos de los fenoles y c) inhibidores de enzimas en la ruta glicolítica, como el clorsulon.

Los benzimidazoles inhiben la polimerización de la tubulina, creyéndose que la despolimerización de los microtúbulos ocasiona inhibición del transporte celular y el metabolismo energético, ambos con un papel esencial en los efectos letales sobre los parásitos al disminuirles progresivamente las reservas energéticas e inhibirles la excreción de los productos de desecho y los factores protectores de las células. Estos efectos ponen de manifiesto la relación que tiene la prolongación del tiempo de contacto entre el parásito y el compuesto con la eficacia del antihelmíntico. Se menciona la resistencia lateral que existe en el grupo de los benzimidazoles, justamente por actuar todos en el mismo receptor, la  $\beta$ -tubulina: cuando esta proteína es alterada en los parásitos resistentes, ninguno de los miembros de este grupo puede unirse al receptor con alta afinidad.

## IMIDAZOTIAZOLES Y TETRAHIDROPYRIMIDINAS

De los imidazotiazoles, el tetramisol fue el compuesto que se sintetizó, por primera vez, como una mezcla racémica de dos isómeros ópticos: tetramisol S (-) y R (+). No obstante, la actividad antihelmíntica de la mezcla reside sólo en el levo-isómero. De los dos compuestos del grupo, el levamisol (levo-isómero del tetramisol) es el más usado, por su amplia disponibilidad comercial y, además,

por ser más potente que el tetramisol y tener un margen mayor de seguridad. Es efectivo contra los estados maduros de los parásitos gastrointestinales de rumiantes y las formas larvares y maduras de los parásitos pulmonares, pero es poco eficaz contra larvas hipobióticas y carece además de acción ovicida. No es efectivo contra céstodos, tremátodos o parásitos externos ni se usa en equinos, por su limitada eficacia y su estrecho margen de seguridad.

El levamisol se absorbe a través de la cutícula; es un agonista colinérgico que afecta la neurotransmisión, causando un efecto espástico paralizante sobre los nematodos. En concentraciones altas en el nematodo afecta su metabolismo energético. Por actuar como un agonista colinérgico en mamíferos, su índice terapéutico es más estrecho que el de otros antihelmínticos de amplio espectro, por lo que su uso al tratar animales debe ser cuidadoso.

El empleo de técnicas electrofisiológicas encaminadas a ampliar el conocimiento sobre el mecanismo de acción de estas drogas, ha demostrado que las superficies de las células somáticas de los nematodos poseen receptores acetilcolino nicotínicos (nAChR). Éstos, en ausencia de agentes de afinidad, permanecen cerrados, pero se abren en presencia de sustancias de afinidad específica, como los antihelmínticos nicotínicos; cuando la molécula antihelmíntica se une a los receptores, se produce una despolarización, desencadenando parálisis espástica de los músculos de los nematodos, que da como resultado la expulsión de los parásitos.

La población de receptores colinérgicos nicotínicos es heterogénea y se han descrito cuatro subtipos: G35 y G45, que son activados por el levamisol, y G25 y G55, en el nematodo del cerdo *Oesophagostomum dentatum*. El receptor nicotínico es una estructura (pentámero) constituida de subunidades homólogas  $\alpha$  y  $\beta$ , cuya disposición determina la formación de un poro central (canal iónico) permeable a cationes de Na y K. La unión de levamisol con los receptores nicotínicos abre los canales iónicos, ocasionando un aumento en la conductancia del Na, con la consecuente despolarización de las membranas celulares, que da como resultado la contracción muscular y la parálisis espástica del parásito, siendo expulsado vivo.

En bovinos, la absorción del levamisol es rápida cuando se administra subcutáneamente, alcanzando niveles sanguíneos máximos en una hora y decreciendo luego hasta las seis horas postratamiento. Se distribuye ampliamente en el hígado, pero se puede encontrar concentraciones altas en la grasa, el músculo, los riñones, la sangre y la orina. Después de 24 horas de su aplicación, el

levamisol es depurado completamente, para ser eliminado a través de la orina, la leche y las heces.

La resistencia al levamisol se debe a una reducción en el número o en la sensibilidad de los receptores colinérgicos del parásito. Se ha demostrado que las especies de nematodos resistentes requieren concentraciones cinco o seis veces mayores que las recomendadas para lograr el efecto nematicida.

El morantel y el pirantel pertenecen al grupo de las tetrahidropirimidinas. El primer compuesto que se usó como antiparasitario fue el pirantel; luego, el morantel y el oxantel. Estos fármacos actúan sobre formas adultas de los nematodos gastrointestinales mediante acción colinérgica, similar a la de los imidazotiazoles. Existen como sales tartrato o pamoato; las sales del morantel exhiben mayor actividad antihelmíntica que los compuestos del pirantel, por lo que se requieren dosis más bajas para lograr su efecto; dada su alta solubilidad, es una droga ideal para la liberación lenta en el medio acuoso del rumen, y se formula como sal tartrato.

### ***Benzimidazoles***

La era de los benzimidazoles se inició en los años sesentas con la introducción en el mercado veterinario del tiabendazol, dándose paso al uso de los antihelmínticos de amplio espectro y mínima toxicidad. El desarrollo de esta familia de antihelmínticos fue sostenido en el tiempo, pasándose en pocos años del desarrollo de los primeros benzimidazoles, como el tiabendazol y el parbendazol, de espectro reducido, al desarrollo de otras sustancias de mayor espectro y potencia, que actúan contra nematodos gastrointestinales, pulmonares, céstodos y tremátodos, para alcanzar así durante muchos años una enorme importancia terapéutica.

Los benzimidazoles se han clasificado farmacológicamente en cuatro grupos (tabla 3). Son sustancias cristalinas estables, con un punto de fusión alto y que se caracterizan por su poca solubilidad en agua, lo que afecta su eficacia, de manera particular en rumiantes, en los que pequeñas cantidades de benzimidazoles son absorbidas en el tracto gastrointestinal. Estas características de absorción y biotransformación constituyen factores de gran importancia, ya que pueden afectar la eficacia de los benzimidazoles. Son también insolubles en éter y benceno, pero bastante solubles en alcohol y disolventes no polares.

Para superar estas limitaciones e inconvenientes, se desarrollaron los profármacos febantel, tiofanato y netobimin, constituyendo los avances más significativos en la búsqueda de moléculas alternativas de benzimidazoles (BZD). Así, el netobimin, el febantel y el tiofanato, que son profármacos inactivos, actúan luego

**Tabla 3.** Clasificación farmacológica de los benzimidazoles.

<b>Grupo farmacológico</b>	<b>Fármacos</b>
Benzimidazoles tiazoles	Tiabendazol Cambendazol
Benzimidazoles metilcarbamatos	Mebendazol Oxibendazol Albendazol Albendazol sulfóxido Fenbendazol Oxfendazol
Benzimidazoles tioles halogenados	Triclabendazol
Probenzimidazoles	Tiofanato Febantel Netobimin

de su conversión enzimática en etil-BZD o metilcarbamatos activos. El tiofanato, para producir sus efectos, tiene que biotransformarse en el animal hospedador en un derivado etil-BZD conocido como lobendazol. El febantel y el netobimin se metabolizan, respectivamente, a fenbendazol en el hígado y a albendazol en el rumen, por acción de la flora gastrointestinal de los animales tratados.

Los benzimidazoles tienen como estructura química el 1,2-diamino benceno. Las diferencias en cuanto a farmacocinética y espectro de actividad entre estos compuestos químicos se ha logrado mediante modificaciones en el C5 del anillo bencénico. Los probenzimidazoles, como el febantel, el tiofanato y el netobimin, son prodrogas inactivas que, por acción enzimática, se convierten en benzimidazoles etil o etil carbamatos una vez que son absorbidos por el hospedador.

Los benzimidazoles son los antihelmínticos más usados para el control de los parásitos gastrointestinales. Los primeros estudios sobre las acciones de estos compuestos mostraron alteraciones ultraestructurales en las células de los nematodos y del tegumento de los céstodos, en particular, ocasionado redistribuciones en las vesículas citoplasmáticas y otros organelos. Como estos cambios coincidían con la desaparición de microtúbulos citoplasmáticos, se creyó que los benzimidazoles actuaban inhibiendo el transporte de vesículas secretoras mediadas por los microtúbulos en los tejidos de absorción con liberación de enzimas digestivas, responsables de los daños titulares que se observaban. Estas suposiciones fueron posteriormente confirmadas, al observarse que el efecto letal del fenbendazol en *Haemonchus contortus* estaba asociado a

la inhibición del transporte de vesículas secretoras intestinales, seguido de la dispersión de vesículas citoplasmáticas en el intestino.

Hoy es claro que la base bioquímica de la acción de los benzimidazoles es su habilidad para unirse a una serie de subunidades de proteína, denominada tubulina, ocasionando alteraciones en la estructura y función de los microtúbulos. Los microtúbulos son estructuras intracelulares muy dinámicas, con las siguientes funciones vitales en las células: movimiento de los cromosomas durante la división celular, absorción de nutrientes, motilidad y soporte estructural de la célula, movimiento de partículas intracelulares, transporte de nutrientes, excreción de desechos metabólicos y comunicación intercelular. Estructuralmente, los microtúbulos están formados por dos subunidades de tubulina,  $\alpha$  y  $\beta$ .

Se ha demostrado en estudios con el agente antimicótico colchicina que este compuesto se une a la tubulina antes de la polimerización, y la inhibición para la formación de microtúbulos radica en la unión-adición de colchicina a la tubulina al final de la formación del microtúbulo, perdiendo esta subunidad la habilidad de aceptar otras moléculas de tubulina para el posterior crecimiento del microtúbulo. Resultados obtenidos con espectroscopía fluorescente indican que el sitio de unión de la colchicina es el monómero  $\beta$ -tubulina, mientras que otros análisis espectroscópicos revelan que la inhibición de la polimerización es debida a un desdoblamiento local, inducido por la droga, de una pequeña región en el monómero  $\beta$ -tubulina.

Un mecanismo similar es el responsable de la inhibición de la polimerización de la tubulina, debido a que el sitio de unión de los benzimidazoles está localizado en la  $\beta$ -tubulina. Estas estructuras están en un estado de dinámica continua, en la que la construcción y la destrucción de estas subunidades solubles están balanceadas. Entonces, la interacción antihelmíntico-tubulina da como resultado un cambio de este estado continuo, con pérdida neta de microtúbulos y acumulación de tubulina libre. Como los microtúbulos juegan un papel crucial en muchos procesos celulares, la destrucción inducida por la droga puede conducir a la muerte del parásito. Si bien la alta toxicidad de los antihelmínticos benzimidazoles no está del todo clara, parece que se debe a la interacción fuerte e irreversible de la droga con los parásitos, lo que no ocurre en las tubulinas de mamíferos.

Cuando los compuestos benzimidazoles se fijan al monómero de la subunidad  $\beta$  de la tubulina de nematodos y cestodos, se modifica el patrón de polimerización necesaria para la formación de los microtúbulos, es decir, se impide

la unión de las subunidades de proteína  $\alpha$  y  $\beta$  de la tubulina, ocasionando una alteración del equilibrio microtúbulo/tubulina y, por lo tanto, desencadenando su despolimerización, con lo cual se altera la función y la estructura de estos órganos de las células intestinales de los nematodos.

Luego de la administración de un benzimidazol, este compuesto llega al sitio donde el parásito objeto de control se localice, en concentraciones que dependen del tejido donde el parásito esté ubicado. Allí, el medicamento debe penetrar al interior del parásito y reconocer los receptores para ejercer su efecto nematicida, cuya magnitud dependerá de: la afinidad del benzimidazol por el receptor, la actividad del fármaco y el número de receptores. Al respecto, se ha demostrado que los parásitos resistentes a los benzimidazoles poseen un número mayor de una isoforma de la  $\beta$ -tubulina, con menor afinidad por estas moléculas. Así mismo, se ha observado que la llegada de los benzimidazoles y sus metabolitos activos al interior de los parásitos depende de factores como: el tipo de parásito, la ubicación y el hábito del mismo y las características de las moléculas empleadas.

Un factor importante relacionado con la eficacia de estos compuestos es que la unión del benzimidazol con los receptores no produce efectos inmediatos, sino que éstos aparecen luego de cierto tiempo de exposición; por esto, cuando su administración es mantenida, el grado de eficacia se incrementa.

Se ha demostrado que la eficacia de los benzimidazoles en los rumiantes se incrementa cuando éstos son administrados directamente en el rumen, que actúa como reservorio de la droga, permitiendo concentraciones sostenidas de la droga y disminuyendo el paso de droga no absorbida por del tracto gastrointestinal. Por el contrario, la eficacia de los benzimidazoles disminuye cuando se deposita directamente en el abomaso, vía surco esofágico, ya que se acorta el tiempo de duración de la droga y se incrementa la excreción en las heces.

### ***Salicilanilidas***

En el grupo de las salicilanilidas se encuentra el closantel, el único compuesto de amplio espectro. Es un ácido débil de alto peso molecular, lipofílico y, por tener bastante afinidad por las proteínas plasmáticas, es un compuesto con biodisponibilidad media. La eliminación del closantel es prolongada porque tarda hasta 15 días en depurarse y eliminarse, especialmente en ovinos. La biodisponibilidad de este medicamento depende de la vía de administración: si se hace por vía oral, la absorción es baja, y lo contrario ocurre cuando se suministra parenteralmen-

te. Actúa contra *Haemonchus contortus*, *Fasciola hepática*, *Oestrus ovis* y algunos artrópodos; su eficacia contra *H. contortus* se debe a su afinidad por las proteínas plasmáticas, superior a 99%. La principal vía metabólica del closantel es una monodeiodinación reductiva hepática que forma dos isómeros monoiodoclosantel, únicos metabolitos recuperados en las heces de los animales tratados.

### ***Lactonas macrocíclicas***

Las avermectinas y las milbemicinas son fármacos estrechamente relacionados, que pertenecen al grupo de las lactonas macrocíclicas. Son drogas de amplio espectro y elevada potencia que se usan para el control de parásitos internos y externos (nematodos y artrópodos), razón por la cual se les denomina endectocidas. Las avermectinas, y en menor medida las milbemicinas, revolucionaron en las últimas dos décadas el control de los parásitos en los animales. Las avermectinas son moléculas naturales y semisintéticas derivadas de los micelios del *Streptomyces avermectilis*, cuya fermentación produce cuatro pares homólogos de compuestos relacionados: avermectina A1, A2, B1 y B2, que contienen proporciones diversas de estos pares homólogos; así, la abamectina (avermectina B1) contiene 80% de avermectina B1a y 20% de avermectina B1b.

Las membranas de las células musculares somáticas, faríngeas, uterinas y sus neuronas asociadas de nematodos y artrópodos contienen canales iónicos selectivos al cloro. Estos canales están constituidos por cinco subunidades proteicas, de las cuales, tres subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  forman combinaciones entre sí para formar un pentámero, siendo el glutamato (Glu) el ligando natural en los canales iónicos, que vienen a ser los receptores conocidos como GluCl. Las avermectinas y las milbemicinas actúan como agonistas de elevada afinidad sobre la subunidad  $\alpha$  de estos canales, de tal manera que, cuando los nematodos y artrópodos son expuestos a la acción de estos compuestos químicos, la motilidad, la fecundación y la capacidad de alimentación de estos parásitos se afecta.

Estos compuestos químicos comparten el mismo mecanismo de acción, no obstante, las variaciones en las propiedades terapéuticas de estas moléculas, como resultado de la forma farmacéutica y de las bondades propias de cada molécula. Si bien es probable que estos compuestos tengan más de un modo de acción, el mecanismo central es el de modular la actividad en los canales del ión cloro en las células nerviosas de los nematodos y en las células nerviosas y musculares de los artrópodos. Lo normal es que el glutamato se enlace en el receptor postsináptico, provocando una apertura de los canales de cloro (Cl).

Cuando estos fármacos se unen de manera selectiva e irreversible a los receptores, bloquean el glutamato y hacen que permanezcan abiertos los canales de cloro por acción del glutamato. Como resultado los iones de cloro siguen fluyendo al interior de la célula nerviosa, lo que origina una hiperpolarización de la membrana de la célula muscular y/o neuronal, que trae como consecuencia el bloqueo de la neurotransmisión, produciendo una parálisis flácida del parásito y la inhibición de la ingestión de alimento por el bloqueo de la bomba faríngea. Esto le impide mantenerse en el sitio natural donde se localiza y, entonces, el animal es eliminado.

En mamíferos, las avermectinas han mostrado tener actividad con el complejo receptor GABA<sup>1</sup>/canal cloro, estimulando la liberación presináptica de GABA y potenciando su unión a su receptor, lo que produce una prolongada hiperpolarización de las neuronas. Las avermectinas también han mostrado actividad sobre el complejo receptor glicina/canal cloro. Estos complejos están restringidos al sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos, por lo que, dadas las bajas concentraciones de avermectinas que se alcanzan en el SNC, hacen que estas moléculas sean extremadamente seguras en mamíferos. La tabla 4 muestra los sitios blanco más comunes de los antihelmínticos que se usan.

Así mismo, algunos autores han demostrado el papel que tienen los receptores GluCl en el desarrollo de la resistencia. La figura 1 presenta el esquema del modo de acción de los endectocidas.

## **IMPACTO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS EN LAS PRADERAS**

Sobre el impacto que los antiparasitarios, y en particular los antihelmínticos, causan en el medio ambiente, se conoce todavía muy poco, aunque algunos estudios han revelado que los residuos tóxicos de ciertos antiparasitarios eliminados por los animales son tóxicos para insectos coprófagos, perturban el funcionamiento de algunos pastizales y prolongan el tiempo de descomposición del estiércol de vacas y caballos.

El tema, o mejor, el impacto ambiental negativo ocasionado por las moléculas antiparasitarias no habían tenido importancia o fue opacado por parte de los productores y la industria farmacéutica, en aras de incrementar el beneficio económico de los sistemas de producción animal mediante el control de parásitos, sobre la base del empleo de compuestos químicos. Sin embargo, no todos los compuestos químicos veterinarios comparten el mismo nivel de riesgo para

---

1 Ácido gamma-aminobutírico, el principal neurotransmisor inhibitorio cerebral.

Tabla 4. Sitios de unión de los antihelmínticos.

Canales iónicos	Microtúbulos	Bioenergéticos	Desconocido
Tetrahidropirimidinas (pirantel, morantel)	Benzimidazoles (tiabendazol, mebendazol, albendazol, netobimin)	Salicilanilidas (closantel)	Praziquantel
Imidazotiazoles (levamisol)		Sulfonamidas clorinadas (clorsulon)	Triclabendazol
Lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina)			
Piperazina			

Fuente: Köhler, 2001



Figura 1. Esquema del mecanismo de acción para los fármacos endectocidas en nematodos. Tomado de Mottier y Lanusse, 2002.

los ecosistemas de producción animal, ya que esto depende de la familia química a la que pertenezcan estos compuestos.

La fenotiacina, el cumafos, el ruelene, el diclorvos, la piperazina, algunos piretroides sintéticos (alfametrina, deltametrina y flumetrina) y la mayor parte de las lactonas macrocíclicas, como la abamectina, ivermectina, eprinomectina, doramectina y, en menor medida, la moxidectina, son las moléculas que se

señalan como las más tóxicas para los insectos. Sobre otros medicamentos, como los benzimidazoles (tiabendazol, cambendazol, mebendazol, fenbendazol y oxfendazol) y el levamisol/morantel, no se conocen evidencias de toxicidad sobre los coléopteros coprófagos, de acuerdo con estudios realizados hasta ahora. Tampoco se conocen efectos tóxicos de las salicinalanilidas, como la niclosamida y la rafoxanida.

En relación con los efectos del diclorvos, usado como antihelmíntico en equinos, se ha demostrado que sus residuos ocasionan alta mortalidad en insectos coprófagos durante los diez primeros días posteriores al tratamiento, informándose que los residuos contenidos en el estiércol de un solo caballo podría matar hasta 20.000 escarabajos coprófagos durante ese período, y que el tiempo de degradación y desaparición de la boñiga de caballos tratados con diclorvos es bastante mayor que el de los animales no tratados.

De los antihelmínticos disponibles y usados en la actualidad por los productores, las ivermectinas/milbemicinas son los fármacos con efectos más negativos sobre el ambiente, especialmente en las poblaciones de insectos benéficos asociados al estiércol, en particular, en sus formas larvarias. La toxicidad y/o mortalidad de larvas o adultos, la interferencia de la reproducción o las alteraciones de la metamorfosis en los insectos dependen de las concentraciones de los medicamentos en las heces, que, a su vez, dependen también de las diferentes vías de administración.

Diversos estudios han demostrado que las larvas de algunos dípteros, en particular los Ciclorrafas, son bastante afectadas por la ivermectina hasta 30 días después de haber sido tratados los animales con ella, en dosis terapéutica y por vía subcutánea. Así mismo, ha ocurrido mortalidad total o muy alta de larvas de *Lucilia cuprina* durante los primeros 30 días posteriores al tratamiento de bovinos con ivermectina. En otros experimentos, realizados para observar el efecto sobre los escarabajos *Onthophagus* y *Aphodius* en estiércol de vacas y ovejas tratadas con organofosforados, benzimidazoles, levamisol e ivermectinas, se han demostrado efectos deletéreos de las ivermectinas sobre esa microfauna benéfica, mas no con el resto de compuestos usados en esas pruebas.

En relación con las modificaciones del tiempo de degradación del estiércol en animales tratados con ivermectinas, existe información que señala que las boñigas de animales tratados oralmente con ivermectina han quedado sin degradar 100 días posteriores al tratamiento, mientras que la de los animales no tratados sí se degradaron y desaparecieron durante ese mismo tiempo, lo que demuestra los efectos ecotóxicos que tiene la ivermectina sobre la ecología de las pasturas.

Se ha observado una mayor intensidad de los olores en el estiércol de animales tratados con ivermectina que en el de los no tratados, haciendo que aquéllos sean más atractivos para la comunidad de insectos coprófagos, lo que incrementa el riesgo para estos insectos. La razón del incremento de los olores obedece a la mayor liberación en los excrementos de algunos aminoácidos, como valina, alanina, lucina y prolina.

Este panorama pone en evidencia que los efectos indeseables de algunos medicamentos veterinarios pueden disminuir componentes importantes del ecosistema, como los coléopteros, dípteros y anélidos, ocasionando desequilibrios en el sistema de las praderas y modificaciones en el ecosistema, en la medida en que afecta eslabones claves de la cadena de insectos degradadores.

### EL DESARROLLO DE NUEVOS ANTIPARASITARIOS

Se ha estimado que el descubrimiento de una nueva molécula antiparasitaria requiere de inversiones cercanas a 200 millones de dólares y de 10 años de investigación para entrar al mercado veterinario. De otro lado, existen enormes diferencias entre las ganancias de la industria farmacéutica veterinaria y de la humana, siendo exageradamente mayores éstas y, además, ostensiblemente menor el mercado veterinario, comparado con el humano.

Las razones anteriores ponen en evidencia las dificultades que tiene que enfrentar la industria farmacéutica veterinaria para producir nuevos antiparasitarios y la necesidad que hay de preservar esta herramienta fundamental y, probablemente, irremplazable para el control de los parásitos de rumiantes. Si bien hubo un progreso continuo en los nuevos modos de acción de los antihelmínticos durante varias décadas, lo que compensaba el desarrollo paralelo de la resistencia, es importante tener en cuenta que, desde los inicios de 1980, época en que salió al mercado la ivermectina, hace casi un cuarto de siglo, no aparece un antihelmíntico con un nuevo mecanismo de acción.

Sin embargo, a pesar de los notables esfuerzos que se hacen en la actualidad para identificar y desarrollar nuevos antihelmínticos, hay incertidumbre sobre la aparición en un futuro cercano de un producto con un mecanismo de acción diferente en el área de la ganadería. La pregunta es si el desarrollo y la disponibilidad de nuevos antihelmínticos se verán inevitablemente afectados por el problema en curso de la resistencia.

Es probable que estas dudas lleven a focalizar los esfuerzos de investigación en la búsqueda de nuevas y mejores formas de uso de los compuestos

antihelmínticos que las actuales, dirigidas hacia un manejo más sostenible, que permita preservar su eficacia tanto como sea posible en las muchas especies de nematodos gastrointestinales.

Actualmente, la actividad científica ha conducido a descubrir unos pocos prometedores candidatos: los ciclo-octadepsipéptidos y la paraherquamida, que parece que serán realidad en los años venideros. Sin embargo, no existen razones para creer que las próximas drogas no corran la misma suerte que sus predecesoras: la pérdida de su eficacia por el desarrollo de la resistencia, lo cual refuerza los requerimientos de estrategias adicionales para que se evite o se posponga su surgimiento en las poblaciones de nematodos gastrointestinales.

## CONCLUSIONES

El desarrollo de antihelmínticos, desde la introducción de las moléculas químicas de amplio espectro, produjo un profundo impacto en el control de los parásitos internos de rumiantes. No obstante esos importantes desarrollos, los parásitos de los rumiantes, así como las enfermedades ocasionadas por estos agentes, generan importantes pérdidas económicas en los sistemas de producción ganaderos.

Los antihelmínticos constituyen en la actualidad el principal método de control de los nematodos de rumiantes en el mundo, con una enorme importancia en la industria farmacéutica veterinaria, dado el enorme crecimiento que ha tenido el mercado de estos medicamentos desde la década de los setentas.

Los antihelmínticos más comúnmente usados para el control de los parásitos pertenecen a tres grandes familias químicas: los benzimidazoles, los agentes nicotínicos y las lactonas macrocíclicas, caracterizadas por tener distintos mecanismos de acción. De éstos, los mayores conocimientos provienen de los benzimidazoles, en tanto que se hacen esfuerzos por lograr una mayor comprensión de las otras dos familias.

Es incierto el futuro de los actuales antiparasitarios, si se considera el uso indiscriminado e irracional que se hace de ellos. Esta situación condujo al surgimiento de la resistencia a estos compuestos en los nematodos gastrointestinales de los rumiantes en diferentes partes del mundo.

Si bien fueron ostensibles los logros obtenidos en el campo del desarrollo de medicamentos antihelmínticos en las tres décadas comprendidas entre los sesentas y los ochentas, no es claro el panorama para el desarrollo de nuevas moléculas y formas de liberación, por una parte, por los altos costos económicos que implica la investigación en este campo y, por otra, por el tiempo requerido.

# Bibliografía

- Artho, R., Schnyder, M., Kohler, L., Torgeroson, P.R. y Hertzberg, H. 2007. Avermectin-resistance in gastrointestinal nematodes of Boer goats and Dorper sheep in Switzerland. *Veterinary Parasitology* 144: 68-73.
- Besier, B. 2006. New anthelmintics for livestock: the time is right. *Trends in Parasitology* 23(1): 20-24.
- Booth, N. y MacDonald, I. 1987. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Primera edición española. Ed. Acribia S.A., Zaragoza. 528 p.
- Echevarría, F. 1996. Antihelmínticos e resistencia antihelmíntica. En: *Memorias Curso-taller internacional de epidemiología y diagnóstico de endoparásitos en rumiantes*. Biblioteca Agropecuaria de Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, Bogotá. 220 p.
- Floate, K.D. 2006. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 70: 1-10.
- Fuentes, V. 1992. *Farmacología y terapéutica veterinarias*. Segunda edición. Ed. Interamericana McGraw-Hill, Ciudad de México. 669 p.
- Geary, T.G. 2005. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. *Trends in Parasitology* 21(11): 530-532.
- Köler, P. 2001. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology* 31: 336-345.
- Lanusse, C. and Prichard, R. 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminants anthelmintics. *Veterinary Parasitology* 49: 123-158.
- Le Jambre, L. 1997. Genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. En: *10º Seminario brasileiro de parasitología veterinaria. Primer seminario de parasitología dos países do Mercosul*. Anais. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 6(2). 485 p.
- Le Jambre, L., Gill, J.H., Lenane, I.J. y Baker, P. 2000. Inheritance of avermectin resistance in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology* 30: 105-111.
- Lumaret, J.P. y Martínez, I. 2005. El impacto de productos veterinarios sobre insectos coprófagos: consecuencias sobre la degradación del estiércol en pastizales. *Acta Zoológica Mexicana* 21(3): 137-148.
- Martin, R.J. 1996. An electrophysiological preparation of pharyngealmuscle reveals a glutamate-gated chloride channel sensitive to the avermectin analogue milbemycin. *Parasitology* 112: 247-252.
- Martin, R.J., Murray, I., Robertson, A.P., Bjorn, H. y Sangster, N. 1998. Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. *International Journal for Parasitology* 28: 849-862.
- Martin, R.J. y Robertson, A.P. 2000. Electrophysiological investigation of anthelmintic resistance. *Parasitology*, 120: 87-94.

- Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. En: [cni.inta.gov.ar/helminto/pdf/%20Resistencia/Mottier2.pdf](http://cni.inta.gov.ar/helminto/pdf/%20Resistencia/Mottier2.pdf).
- Strong, L. 1993. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Veterinary Parasitology* 48(1): 3-17.
- Strong, L., Wall, R., Woolford, A. y Djeddour, D. 1996. The effect of faecally excreted ivermectin and fenbendazol on the insect colonization of cattle dung following the oral administration of sustained-release boluses. *Veterinary Parasitology* 62(3-4): 253-266.
- Waller, P. 1993. Towards sustainable nematode parasite control of livestock. *Veterinary Parasitology* 48: 295-309.



# Capítulo II

**Resistencia a los antihelmínticos en  
rumiantes y estrategias para su control**

---



# Historia y prevalencia de la resistencia

**E**l descubrimiento de sustancias químicas para el control de los parásitos gastrointestinales en los animales ha sido exitoso gracias al desarrollo de antiparasitarios de alta eficacia y amplio espectro, con un impacto profundo a partir del momento en que el tiabendazol apareció en el mercado farmacéutico. Desde entonces, y gracias al desarrollo de nuevas moléculas, las tres familias de antihelmínticos de amplio espectro son de uso corriente en los animales de producción.

Pasaron pocos años desde el impacto causado, cuando empezó a notarse que algunas especies de nematodos gastrointestinales evadían los efectos letales de determinados antihelmínticos, por la baja respuesta clínica observada en los animales tratados. Se estaba entonces ante la presencia del fenómeno de resistencia a los antihelmínticos en los pequeños rumiantes, convirtiéndose, quizás, en la amenaza más importante que tienen que enfrentar actualmente tanto los productores como los médicos veterinarios para lograr un control adecuado y sostenible de los parásitos del ganado en el mundo. Esta situación se torna crítica cuando los productores cambian de manera indiscriminada el uso de un antihelmíntico por otro, con lo que presionan una mayor resistencia hasta llegar a casos de resistencia múltiple, es decir, resistencia a más de una familia antihelmíntica.

¿Qué es la resistencia antihelmíntica? Es la capacidad que tienen los parásitos para evadir los efectos tóxicos de un compuesto químico, efectos que son letales para otras poblaciones de la misma especie. Es decir, la población de parásitos reduce su sensibilidad a la acción de una o más sustancias químicas. Esta capacidad es heredable, y se refleja, por lo tanto, en un aumento de parásitos dentro de esa misma población que son capaces de evadir los efectos letales de las drogas.

## SITUACIÓN OVINA Y CAPRINA

Los reportes iniciales de resistencia antihelmíntica ocurrieron al final de la década de los cincuentas e inicio de los sesentas, relacionados con la resistencia

a la fenotiacina de *Haemonchus contortus* de ovejas y pequeños estrongilos de caballos. Posteriormente, en 1961, se introdujo en el mercado el tiabendazol como el primer antihelmíntico que combinaba eficacia de amplio espectro y baja toxicidad, lo que produjo una rápida aceptación y uso para el control de los endoparásitos.

La primera evidencia de resistencia al tiabendazol ocurrió en 1964 cuando, a los pocos años de haber sido introducido este benzimidazol, se conoció el primer reporte de resistencia de *H. contortus* en pequeños rumiantes. Más tarde, debido al amplio uso de los benzimidazoles, hubo reportes de resistencia nuevamente de *H. contortus* en ovejas y en ciatostomas de equinos. El número de reportes de resistencia a los benzimidazoles fue creciendo hasta que se conocieron informaciones sobre resistencia a estos antiparasitarios en otros nematodos tricostrongídeos, como *Teladorsagia circumcincta* y *Trichostrongylus colubriformis*. En 1976 y 1987, se conocieron informes de resistencia en Sudáfrica al levamisol/morantel y a las lactonas macrocíclicas, respectivamente. A partir de estos reportes iniciales, la resistencia ha aparecido y se ha extendido en el mundo en especies diferentes a los pequeños rumiantes, como bovinos y equinos.

La prevalencia e incidencia de la resistencia antihelmíntica dan cuenta de la enorme importancia económica que este fenómeno tiene en el contexto de la producción pecuaria mundial. Esta situación la ilustra el resultado arrojado por una encuesta realizada en 1998 en 77 países miembros de la Organización Internacional de Epizootias (OIE), en la que en 55% de estos países se ha diagnosticado resistencia a por lo menos un agente antiparasitario y, de éstos, 86% informó tener diagnóstico de resistencia a antihelmínticos, especialmente en ovinos.

Una mirada sobre el estado actual de la resistencia a los antihelmínticos da una idea de la magnitud del problema desde los años noventas, poniéndose de manifiesto que este problema ha pasado de ser un tema de interés académico para convertirse en la principal amenaza que tienen los sistemas de producción con pequeños rumiantes. Actualmente, debido al surgimiento de la resistencia múltiple en especies como *H. contortus*, *T. circumcincta* y *T. colubriformis*, la industria ovino caprina está amenazada en algunos países suramericanos, en en Suráfrica, el suroriente de Estados Unidos y en Malasia. Una situación parecida viven los productores de Nueva Zelanda y Australia, aunque con menos severidad. Sin embargo, en estos dos últimos países se conocen ya reportes de resistencia a la moxidectina.

En general, en el continente europeo la mayor resistencia se presenta en nematodos de ovejas y cabras y, en menor proporción, en caballos, al grupo

de los benzimidazoles, creyéndose que el grupo de antihelmínticos levamisol/morantel mantiene todavía altos niveles de eficacia, no obstante la existencia de informes que revelan la presencia de resistencia a este grupo en cerdos.

En cuanto a las ivermectinas, se conocen informes que señalan el surgimiento de la resistencia a este grupo de fármacos, como la existente en Escocia. Igualmente, en Gran Bretaña, en un estudio llevado a cabo para probar la eficacia del levamisol en corderos infectados artificialmente con una cepa de *T. circumcincta* resistente al fenbendazol y a la ivermectina más el fenbendazol, se encontró la primera evidencia de resistencia a la ivermectina en Europa y el primer caso de resistencia múltiple en Gran Bretaña.

Se sabe que en África existe resistencia a los tres principales antihelmínticos de amplio espectro, con el agravante de padecerse resistencia múltiple en varios de los países de ese continente, principalmente en Kenia y Sudáfrica. Así mismo, no deja de ser preocupante el hecho de encontrar que 90% de los 60 predios evaluados durante un estudio presentó resistencia cepas de parásitos a diferentes compuestos químicos pertenecientes a por lo menos un grupo de antihelmínticos, mientras que 40% fue resistente a más de tres grupos antihelmínticos de los que fueron probados (benzimidazol, levamisol, salicilanilida, ivermectina).

En Australia, existe resistencia a los benzimidazoles, el levamisol/morantel, las lactonas macrocíclicas y resistencia múltiple, tornando crítica la situación en este país.

En Estados Unidos, debido tal vez a que la industria ovina no tiene la importancia que en otros países, se conocen pocos reportes sobre resistencia a los antihelmínticos, salvo algunos pocos conocidos de los estados de Luisiana y Florida, en los que se informa sobre resistencia a los benzimidazoles y a las ivermectinas.

En América del Sur, la situación de la resistencia en los nematodos de ovinos es preocupante: Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay poseen altos y extensos niveles de resistencia a los antihelmínticos, creyéndose incluso que los grupos más usados, como los benzimidazoles y levamisol/morantel, han llegado al fin de su efectividad quimioterapéutica. En Brasil, por ejemplo, se conocen los resultados de un estudio realizado en 31 rebaños de ovinos, en los que se detectó resistencia al tiabendazol en 38% de los rebaños evaluados, al levamisol en un 25,8% y con resistencia múltiple 19,4%, siendo *Haemonchus spp.* el parásito que resistió al tratamiento con tiabendazol y *Trichostrongylus spp.* y *Ostertagia*

*spp.* los que demostraron resistencia al tratamiento con tetramisol. La tabla 5 muestra la situación preocupante de la industria ovina de estos países.

Esto quiere decir que el problema de resistencia se presenta entre las latitudes 10° Sur y 30° Sur, donde se encuentran países como Argentina, Australia, Brasil, Nueva Zelanda, Paraguay, Sudáfrica y Uruguay, que cuentan con grandes explotaciones ovinas y caprinas. Es de destacar que estas especies se caracterizan porque no desarrollan respuestas sólidas que les permitan enfrentar exitosamente a los endoparásitos, además de ser explotadas en condiciones de pastoreo permanente a lo largo del año en regiones de alta humedad (regiones tropicales/subtropicales), en donde las condiciones son favorables para la diseminación y transmisión de poblaciones de parásitos resistentes.

### SITUACIÓN BOVINA

Los reportes de resistencia antihelmíntica en bovinos son menos conocidos que en los pequeños rumiantes, lo que ha dado pie para creer que este problema no tiene importancia todavía en los sistemas de producción bovina del mundo. Sin embargo, estudios llevados a cabo recientemente han demostrado la presencia de altos niveles de resistencia en *Cooperia spp.* a la ivermectina-milbemicina, lo que permite suponer que este problema en nematodos de bovinos podría ser más común de lo que se cree (véase la tabla 5).

El problema de la resistencia de los nematodos gastrointestinales de los bovinos a los antihelmínticos está presente y se está extendiendo en los con-

**Tabla 5.** Resistencia antihelmíntica en parásitos nematodos de ovejas en Suramérica.

PAÍS	BZD	LEV	COMB	IVM inyectado	IVM oral	CLOS
Argentina (65)*	40%	22%	11%	-	6%	-
Brasil (182)*	90%	84%	73%	-	13%	20%
Paraguay (37)*	73%	68%	-	47%	73%	-
Uruguay (252)*	86%	70%	-	-	1.2%	-

\* número de predios en cada experimento; BZD, grupo del benzimidazol; LEV, grupo del levamisol/morantel; Comb, BZD + LEV; IVM, grupo de las lactonas macrocíclicas; CLOS, closantel.

Fuente: Waller, 1997

tinentes europeo, americano y en Oceanía. En éste último, se conocen reportes de Nueva Zelanda en los que se informa de la resistencia a benzimidazoles e ivermectina, siendo *C. oncophora* el parásito del que se ha recuperado el mayor número de larvas en los coprocultivos postratamiento. Así mismo, en el Reino Unido se ha informado de la detección de resistencia del género *Cooperia* a las avermectinas.

Se conocen dos primeros casos de resistencia detectados recientemente en América del Norte, siendo *Ostertagia* y *Trichostrongylus* los parásitos más involucrados y en menor medida, *Cooperia* y *Haemonchus*. La misma información da cuenta de la resistencia múltiple de *Haemonchus* a la ivermectina y a los benzimidazoles.

En Suramérica, el tema de la resistencia a los antihelmínticos en nematodos de bovinos está tomando importancia, y se han realizado trabajos para conocer la realidad en algunos países suramericanos, como Argentina, Brasil y Colombia. De estos estudios se conocen algunos resultados, entre ellos los de Brasil, país en el que se ha evaluado la susceptibilidad de *Haemonchus spp.* mediante tratamientos con oxfendazol y fenbendazol en terneros de seis a diez meses de edad; se encontraron porcentajes de reducción de 60% y 81%, respectivamente, evidenciándose la presencia de resistencia en este helminto. En este país se ha reportado también la resistencia a la ivermectina en cepas de *C. oncophora* de bovinos.

Resultados de trabajos realizados también en Brasil, dan cuenta de la presencia de resistencia a la ivermectina en *H. placei* y en *C. punctata*. En Argentina, se detectaron en 2000 los primeros casos de resistencia de nematodos de bovinos a las avermectinas: se identificó a *C. pectinata* como resistente a la ivermectina y a *C. oncophora* a la doramectina. Es probable que a partir de estos estudios el problema de la resistencia se haya incrementado por el alto número de tratamientos con ivermectina que se le practica al ganado de carne en ese país.

En Argentina se tiene conocimiento, desde 2003, de casos de resistencia multiespecie y multidroga en la región pampeana. Un estudio realizado en un predio de esa región demostró la resistencia de *C. punctata*, *O. ostertagi* y *H. placei* a los benzimidazoles, en tanto que *C. oncophora* resultó resistente a ivermectinas y benzimidazoles. De acuerdo con los autores del estudio, la aparición de este problema pudo deberse al uso intensivo de antihelmínticos, a la ausencia de población refugio y a la frecuente circulación de bovinos infectados en esa zona.

En lo relacionado con *Fasciola hepatica*, se conocen reportes de resistencia de este parásito tanto en bovinos como en ovinos. En 1967 se conoció el primer

reporte al hexaclorofeno y posteriormente se informó de la presencia de resistencia a la rafoxanida, y más recientemente, en 1998, de la aparición de resistencia de *F. hepatica* al triclabendazol en bovinos y ovinos de una región de Holanda.

En Colombia, el primer estudio, realizado en 2007 por el autor de esta publicación, en 36 fincas del sistema de producción de lechería especializada en la Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá, reveló los siguientes resultados (tablas 6a-c):

- a) Se detectó la presencia de resistencia a los antihelmínticos en nueve fincas (25%), basada en la prueba de la reducción del conteo de huevos fecales (RCH<sub>1</sub>, fórmula de la WAAVP<sup>1</sup>) y utilizando los promedios aritméticos de los recuentos.
- b) En 17% de las fincas se presentó resistencia al albendazol y en 8%, a la ivermectina.

El cálculo de la resistencia se hizo también empleando la fórmula:

$$RCH_2 = 100 [(1 - (T_2 / T_1)) \times (C_1 / C_2)]$$

En donde T y C son los promedios aritméticos de huevos de parásitos por gramo de materia fecal (hpg) de los grupos control y tratado y los subíndices 1 y 2 designan, respectivamente, los recuentos antes y después de los tratamientos, con el objeto de observar diferencias o no entre estas fórmulas.

Al comparar ambas fórmulas no se observaron diferencias fundamentales en el porcentaje de reducción de hpg para los tres antihelmínticos empleados, en especial cuando la comparación se hizo con el total de fincas estudiadas y con las fincas que no presentaron resistencia antihelmíntica, presentándose alta correlación entre los resultados de las dos fórmulas empleadas. Lo anterior puede indicar la complementariedad de estas dos fórmulas para llevar a cabo pruebas de eficacia antihelmíntica en Colombia. Sin embargo, esta alta correlación entre las dos fórmulas en las circunstancias anteriores no se presentó cuando las fórmulas se emplearon en las fincas positivas a resistencia (tabla 7).

- c) En las nueve fincas en donde se detectó resistencia, *Cooperia spp.* fue el parásito involucrado. En cinco de estas fincas se observó resistencia de *Cooperia* al benzimidazol y en las cuatro restantes, a la ivermectina.

---

1 Siglas en inglés de la Asociación Mundial para el Avance y Desarrollo de la Parasitología Veterinaria.

**Tabla 6a.** Promedios de hpg en los grupos control y tratados (pre y postratamiento) y el porcentaje de reducción del conteo de huevos fecales (RCH) empleando las fórmulas RCH<sub>1</sub> y RCH<sub>2</sub> en 35 grupos de bovinos tratados con ivermectina. Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá, 2003.

Finca Nº	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas para el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH <sub>1</sub> (95% IC)	RCH <sub>2</sub>
	N	Prom. hpg	N	Prom. hpg	N	Prom. hpg	N	Prom. hpg		
1	11	300	11	281	11	295	11	0	100a	100a
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	10	450	10	465	10	30	93,5 (62-99)c	93,6a
4	10	265	10	285	10	205	10	0	100a	100a
5	10	200	10	185	10	240	10	0	100a	100a
6	11	550	11	545	11	554	11	4,5	99,2 (93-100)a	99,1a
7	11	500	11	504	11	495	11	9	99,1(92-100)a	98,2a
8	10	240	10	250	10	250	10	5	98 (83-100)b	98,1a
9	10	372	10	377	10	377	10	5	100a	100a
10	11	259	11	268	11	313	11	4,5	98,6 (88-100)b	98,6a
11	10	425	10	405	10	365	10	0	100a	100a
12	11	418	11	413	11	413	11	4,5	98,9 (91-100)a	98,8a
13	13	388	13	384	13	384	13	0	100a	100a
14	11	504	11	500	11	645	11	0	100a	100a
15	10	230	10	215	11	320	11	0	100a	100a
16	11	550	11	550	11	716	11	0	100a	100a
17	8	300	8	306	8	281	8	6,2	97,8 (80-100)b	97,8a
18	8	400	8	395	8	395	8	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	5	98,8 (90-100)a	98,8a
20	10	415	10	410	10	405	10	5	97,5 (78-100)b	97,5a
21	10	170	10	170	10	185	10	0	100a	100a
22	8	237	8	200	8	243	8	18	92,3 (26-99)c	90,7a
23	11	431	11	427	11	450	11	4,5	99 (92-100)a	98,9a
24	11	463	11	468	11	481	11	4,5	99,1 (92-100)a	99a
25	10	295	10	260	10	295	10	0	100a	100a
26	10	340	10	340	10	345	10	10	97,1 (74-100)b	97,1a
27	10	220	10	220	10	215	10	0	100a	100a
28	10	345	10	335	10	530	10	180	66 (27-84)c	65c
29	10	620	10	615	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	354	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	225	10	250	10	10	96 (83-99)b	96a
32	No aplica									
33	10	235	10	235	10	290	10	5	98,3 (-22-98)b	98,2a
34	10	295	10	275	10	745	10	0	100a	100a
35	10	335	10	300	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	375	10	400	10	0	100a	100a

N: número de animales por grupo; hpg: huevos fecales por gramo de materia fecal. RA: resistencia al antihelmíntico ensayado; IC: intervalo de confianza. a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente.

**Tabla 6b.** Promedios de hpg en los grupos control y tratados (pre y postratamiento) y el porcentaje de reducción del conteo de huevos fecales (RCH) empleando las fórmulas RCH<sub>1</sub> y RCH<sub>2</sub> en 35 grupos de bovinos tratados con albendazol. Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá, 2003.

Finca Nº	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas para el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH <sub>1</sub> (95% IC)	RCH <sub>2</sub>
	N	Prom hpg	N	Prom hpg	N	Prom hpg	N	Prom hpg		
1	11	300	11	281	11	295	11	0	100a	100a
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	8	415	8	465	8	5	98,9 (91-100)a	98,8a
4	10	265	10	265	10	205	10	90	56,1c	56,1c
5	10	200	10	200	10	240	10	5	97,9b (82-100)	97,9a
6	11	550	11	536	11	554	11	4,5	99,2 (93-100)a	99,1a
7	11	500	11	495	11	495	11	4,5	99,1(92-100)a	99a
8	10	240	10	240	10	250	10	0	100a	100a
9	10	372	10	377	10	377	10	4,5	98,8 (90-100)a	98,5a
10	11	259	11	268	11	313	11	50	84,1 (57-94)c	84,5a
11	10	425	10	425	10	365	10	15	95,9 (64-100)b	95,8a
12	11	418	11	418	11	413	11	4,5	98,9 (91-100)a	98,9a
13	13	388	13	392	13	384	13	0	100a	100a
14	11	504	11	413	11	645	11	4,5	99,3 (94-100)a	99,1a
15	10	230	10	225	11	320	11	0	100a	100a
16	11	550	11	550	11	716	11	0	100a	100a
17	8	300	8	287	8	281	8	19	93,3 (78-98)c	93a
18	11	400	11	390	11	395	11	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	0	100a	100a
20	10	415	10	410	10	405	10	5	98,8 (89-100)b	98,7
21	No aplica									
22	8	237	8	200	8	243	8	0	100a	100a
23	11	431	11	418	11	450	11	0	100a	100a
24	11	463	11	459	11	481	11	5	99,1 (92-100)a	99a
25	10	295	10	230	10	295	10	65	78 (12-94)c	71,7c
26	10	340	10	310	10	345	10	0	100a	100a
27	10	220	10	215	10	220	10	0	100a	100a
28	10	345	10	320	10	530	10	5	99,1 (92-100)a	98,9a
29	10	620	10	610	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	350	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	195	10	250	10	0	100a	100a
32	10	185	10	190	10	285	10	0	100 <sup>a</sup>	100a
33	10	235	10	245	10	290	10	40	86,2c	86,7a
34	No aplica									
35	10	335	10	280	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	400	10	400	10	65	83,8 (30-96)c	84,1a

N: número de animales por grupo; hpg: huevos fecales por gramo de materia fecal. RA: resistencia al antihelmíntico ensayado; IC: intervalo de confianza. a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente.

**Tabla 6c.** Promedios de hpg en los grupos control y tratados (pre y postratamiento) y el porcentaje de reducción del conteo de huevos fecales (RCH) empleando las fórmulas RCH<sub>1</sub> y RCH<sub>2</sub> en 35 grupos de bovinos tratados con levamisol. Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá, 2003.

Finca Nº	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas para el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH <sub>1</sub> (95% IC)	RCH <sub>2</sub>
	N	Prom hpg	N	Prom hpg	N	Prom hpg	N	Prom hpg		
1	No aplica									
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	10	420	10	465	10	0	100a	100a
4	10	265	10	265	10	205	10	0	100a	100a
5	10	200	10	185	10	240	10	0	100a	100a
6	11	550	11	540	11	554	11	4,5	99,2 (93-100)a	99,1a
7	11	500	11	504	11	495	11	0	100a	100a
8	No aplica									
9	10	372	10	377	10	377	10	0	100a	100a
10	11	259	11	268	11	313	11	4,5	98,6 (88-100)b	98,6a
11	10	425	10	405	10	365	10	0	100a	100a
12	11	418	11	422	11	413	11	0	100a	100a
13	13	388	13	384	13	384	13	4	99 (92-100)a	98,9a
14	11	504	11	495	11	645	11	0	100a	100a
15	10	230	10	235	10	320	10	0	100a	100a
16	12	550	12	550	12	716	12	4	99,4a	99,4a
17	8	300	8	293	8	281	8	6	97,8 (80-100)b	97,7a
18	11	400	11	395	11	395	11	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	0	100a	100a
20	10	415	10	405	10	405	10	5	98,8 (89-100)b	98,7a
21	10	170	10	190	10	185	10	0	100a	100a
22	8	237	8	200	8	243	8	0	100a	100a
23	11	431	11	427	11	450	11	0	100 <sup>a</sup>	100a
24	11	463	11	459	11	481	11	0	100 <sup>a</sup>	100a
25	10	295	10	295	10	295	10	0	100a	100a
26	10	340	10	350	10	345	10	0	100 <sup>a</sup>	100a
27	10	220	10	220	10	215	10	5	97,7 (80-100)a	97,6a
28	10	345	10	325	10	530	10	5	99,1 (92-100)a	98,9a
29	10	620	10	590	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	350	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	220	10	250	10	10	96 (83-99)b	96a
32	10	185	10	190	10	285	10	0	100a	100a
33	10	235	10	250	10	290	10	5	98,3 (85-100)b	98,3a
34	10	295	10	265	10	745	10	0	100a	100a
35	10	335	10	310	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	390	10	400	10	5	98,8 (89 -100)a	98,7a

N: número de animales por grupo; hpg: huevos fecales por gramo de materia fecal. RA: resistencia al antihelmíntico ensayado; IC: intervalo de confianza. a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente.

**Tabla 7.** Correlaciones entre los rch obtenidos de las fórmulas de la WAAVP y de Dash en un total de 36 fincas: 9 fincas con resistencia y 27 sin resistencia. Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá.

Grupos	Benzimidazol	Ivermectina	Levamisol
Total fincas (n)	34	35	34
Correlación	0,99**	0,99**	0,99**
R <sup>2</sup>	0,98	0,98	0,98
Fincas sin RA (n)	28	32	34
Correlación	0,99**	0,99**	0,99**
R <sup>2</sup>	0,98	0,98	0,98
Fincas con RA (n)	6		
Correlación	0,87		
R <sup>2</sup>	0,75 NS		

NS: índice de correlación no significativo.

\*\* : índice de correlación significativo (P < 0,01).

RA: resistencia antihelmíntica.

RCH: reducción del conteo de huevos.

Pueden ser varias las razones para que los hallazgos de resistencia en *Cooperia spp.* sean frecuentes:

- Es una especie dosis-limitante, es decir, que requiere concentraciones máximas de un medicamento para ser eliminada y limita la dosis mínima necesaria para las lactonas macrocíclicas. Se debe tener presente que el parásito dosis-limitante es el que fija el nivel de dosis. En presencia de un conjunto de parásitos actuantes, el nivel de dosis se ajusta al parásito más resistente, debido a que las dosis más bajas o formas farmacéuticas que generen niveles bajos y sostenidos pueden generar resistencia.
- Es probable que las especies dosis-limitantes tengan una frecuencia mayor de genes de resistencia y que éstos tengan características de expresión dominante.
- La mayor capacidad de adaptación de las poblaciones resistentes de *Cooperia spp.*, que le confieren mayor patogenicidad y potencial biótico.
- Ciertos cambios que pueden ocurrir en la biodiversidad o la densidad de los nematodos de bovinos en pastoreo pueden incrementar las caracterís-

ticas de patogenicidad y su potencial biótico en cepas resistentes de *Cooperia*. Sin embargo, estas afirmaciones requieren confirmación.

- Es probable que el incremento que ha tenido este endoparásito en la región estudiada contribuya a una mayor presión de selección para resistencia, dados los tratamientos intensivos y la consecuente escasa población de este nematodo en refugio.

No se detectó resistencia de los nematodos gastrointestinales al levamisol, resultado que está en consonancia con los escasos reportes en la literatura. Es posible que, por el bajo empleo de este medicamento en los predios estudiados (14%), la presión de selección de este compuesto químico sea menor, en comparación con los antihelmínticos de otros dos grupos –60% de uso de benzimidazoles y 26% de ivermectina–, lo que se refleja probablemente en una mayor población en refugio de los nematodos con relación a este principio activo. Esta situación sugiere que el levamisol podría ser la mejor alternativa química disponible en esta región para el control de los nematodos gastrointestinales de bovinos, ya que el endoparásito prevalente en estas regiones es *Cooperia spp.*

Es importante advertir sobre el riesgo alto de la extensión de resistencia a la ivermectina por este nematodo en bovinos de la región estudiada, pues se sabe de la facilidad con que se seleccionan poblaciones de nematodos resistentes por la ivermectina, ya que el desarrollo de resistencia a este principio activo en nematodos es gobernado por una característica completamente dominante, lo que la hace más sensible para seleccionar a bajas frecuencias y, por lo tanto, a desarrollar resistencia en corto tiempo.

En la encuesta que se realizó se reveló que la utilización de antihelmínticos de las familias de las lactonas macrocíclicas y de los benzimidazoles en las 36 fincas estudiadas supera los cinco años de uso; estos antiparasitarios son empleados en todos los animales desde los 2 hasta los 12 meses de edad y en 15 fincas algunos animales de reemplazo fueron introducidos de otras fincas. Este último hecho pone en evidencia que la resistencia detectada en las fincas, así como la sospechada en otras, pudo haber sido seleccionada en las mismas fincas o introducida a través de la comercialización de animales.

El factor que en la actualidad es considerado de mayor importancia en el surgimiento de la resistencia a los antihelmínticos es la población en refugio, entendida ésta como el porcentaje de población de parásitos que no es puesto en contacto con los medicamentos y que, por lo tanto, no es sometido a presión de selección para resistencia. Si se tiene en cuenta que todos los animales

menores de un año de edad son tratados frecuentemente con antiparasitarios durante varios años y que pastorean en las mismas pasturas, es de esperar que los huevos de nematodos excretados provengan de los parásitos sobrevivientes a los tratamientos antihelmínticos, con la consecuente escasa o poca población en refugio. Esta situación podría explicar también el desarrollo de resistencia observado en las nueve fincas.

- d) Los factores de riesgo para la presencia de resistencia a los antihelmínticos en estas fincas fueron: vermifugar a los animales adultos, no dosificar los tratamientos de acuerdo con el peso de los animales y hacer uso de un mismo principio activo durante más de cinco años.
- e) En relación con el manejo de los parásitos, los predios en estudio tenían como única actividad para el control de los parásitos internos la aplicación de antihelmínticos, siendo común en los últimos cinco años el uso de fármacos de amplio espectro –benzimidazoles, levamisol y lactonas macrocíclicas–. Los antihelmínticos más usados pertenecen, en primer lugar, al grupo de los benzimidazoles (60%), especialmente albendazol, seguido por ivermectina (26%) y, finalmente, por el levamisol (14%).

A la pregunta sobre la importancia que tienen los diferentes parásitos en el impacto sobre la producción y la economía de la empresa, 40% de los ganaderos le dio la máxima prioridad a los parásitos pulmonares; 37,1%, a la *F. hepatica* y 22,9%, a las lombrices. El 60% de los productores no detecta que sus animales se enfermen por causas parasitarias, mientras que 40% sí lo hace. El 60% de los productores considera que los animales enferman por parasitismo gastrointestinal durante las épocas de lluvia; 20%, que la mayor prevalencia se da durante la época de invierno a verano; 10% responde que se enferman en verano y para el 10% restante ocurre en la transición de verano a invierno.

El 62,9% de los ganaderos vermifugan a sus animales con base en un concepto técnico; 34,3% lo hace con criterio personal y sólo 2,9% (correspondiente a una finca) no vermífuga. El 64% de los productores tiene en cuenta el peso corporal del bovino para dosificarle el producto, mientras que el restante 36% no lo hace. El 62,9% utiliza un solo producto en el momento de vermifugar, mientras que 37,1% utiliza dos o más productos.

Al establecer el criterio del ganadero sobre la eficacia del fármaco utilizado, el 48,6% considera que en la actualidad ha mejorado la eficacia de los productos utilizados; 11,4% cree que la eficacia es igual, mientras que 40% considera que se ha reducido.

La frecuencia de los tratamientos a los bovinos menores de 12 meses de edad mostró diferencias entre los predios, así: en el 50% (18) de los predios se realizaban de 6 a 9 tratamientos anuales, 22% (8) trataba a los animales mensualmente y el restante 28% aplicaba menos de seis tratamientos al año. Los animales adultos se desparasitaban, en general, dos veces al año y las vacas, en particular, se vermifugaban al mes del parto.

En relación con las rotaciones de los antihelmínticos, en sólo una finca la rotación se hacía cada dos años; en las 35 fincas restantes las rotaciones se hacían en un intervalo menor de un año; rotaciones en las que era indiferente hacer cambios o no de los principios activos. Se ha reportado que la intensidad de los tratamientos y las rotaciones inadecuadas de los antihelmínticos en corto tiempo conducen muchas veces a la aparición de cepas de parásitos resistentes a estos compuestos, pues es sabido que la intensidad de los tratamientos es factor del origen y desarrollo rápido de la resistencia.

Lo anterior confirmó que el único método de control parasitario empleado en el sistema de producción de lechería especializada de la Sabana de Bogotá y valles de Ubaté y Chiquinquirá es el uso exclusivo de sustancias químicas. Los propietarios o mayordomos de los predios reportaron que la razón para que el uso de antihelmínticos siga ocupando el papel central en el control de los parásitos es la facilidad para administrarlos, en particular los de reciente aparición comercial.

Todas las fincas estudiadas tenían como práctica usual los chequeos reproductivos practicados por médicos veterinarios especialistas, y muchas veces las recomendaciones sobre cuándo y a qué grupos de animales tratar provenían de estos profesionales. Por esta razón fue notoria la ausencia de criterios técnicos en la toma de decisiones relacionadas con los controles parasitarios, evidenciándose que las decisiones estaban supeditadas a las recomendaciones de las casas comerciales de productos veterinarios y/o de los laboratorios farmacéuticos, que sugieren por lo general prácticas de control erradas.

- f) Los resultados del estudio corroboraron que la resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos se está extendiendo en el mundo. Es posible que, debido al uso frecuente e indiscriminado de antihelmínticos para el control de los parásitos en el sistema de producción de leche, el problema de la resistencia antihelmíntica esté más extendido de lo que se sospecha. En este sentido, es probable que la mayor prevalencia de *Cooperia spp.* (nematodo de relativa patogenicidad) en las fincas estudiadas y la ausencia de indicadores clínicos precisos que induzcan a pensar en fallas terapéuticas de los antihelmínticos, contribuyan a que el problema se mantenga desestimado.

## SITUACIÓN EN EQUINOS

Las ciatostomas, considerados ahora como el principal parásito de los caballos adultos, son resistentes a drogas del grupo de los benzimidazoles, con una prevalencia superior a 75%, pero es menos común su resistencia al pirantel. No se conocen datos de resistencia de las ciatostomas a la ivermectina, no obstante los 20 años de uso de esta droga, afirmándose que la ausencia de resistencia obedece a la incapacidad de este medicamento para eliminar las larvas que se encuentran en las mucosas y que su existencia en mayor proporción que la de parásitos adultos en el lumen provee una población refugio alta. Sin embargo, estos resultados deben ser confirmados por estudios de eficacia controlada.

Existen registros en Nueva Zelanda de resistencia a los benzimidazoles en ciatostomas de los caballos y sospechas de resistencia de esta misma especie a las lactonas macrocíclicas. La tabla 5 muestra los casos de resistencia conocida a antihelmínticos en los nematodos.

Estas situaciones dejan ver un panorama poco agradable de la resistencia antihelmíntica, tanto multiespecie como multidroga, en diferentes partes del mundo (tabla 8).

**Tabla 8.** Resistencia reportada de los nematodos a los antihelmínticos.

Hospedador y parásito	Antihelmíntico
Cerdos Oesophagostomum	Pirantel Benzimidazoles Ivermectina
<b>Caballos</b> Pequeños estrongílicos	Fenotiacina Pierazina Pirantel Benzimidazoles
Humanos Schistosomas	Hicantona Praziquantel
Ovejas Tricostrongílicos	Imidazotiazoles Naftalofos Benzimidazoles Avermectina/milbemicinas Closantel
Fasciola hepatica	Benzimidazoles Triclabendazol Closantel
Bovinos Tricostrongílicos	Benzimidazoles Ivermectina

La extensión alarmante de la prevalencia de la resistencia no deja de sorprender en el campo de los parasitólogos veterinarios, hasta el punto de preguntarse si la comunidad de científicos es competente para encarar la situación. Por lo tanto, la solución para esta amenaza pasa por la solución de los siguientes interrogantes:

- ¿Dónde es un problema actual la resistencia antihelmíntica y dónde lo será en el futuro?
- ¿Cómo se desarrolla la resistencia?
- ¿Cuáles son los mecanismos de la resistencia?
- ¿De qué manera puede evitarse o posponerse el desarrollo de la resistencia?
- ¿Es práctico y posible revertir la resistencia?
- ¿Serán los nuevos antihelmínticos efectivos contra las poblaciones resistentes?
- ¿Cómo se pueden desarrollar pruebas para detectar la aparición de la resistencia antes de que ocurran fallas terapéuticas?

## ORIGEN DE LA RESISTENCIA

La resistencia adquirida de los nematodos gastrointestinales es un mecanismo de defensa que ocurre a nivel molecular, fenómeno que es entendido como una respuesta biológica evolutiva que se expresa como la oportunidad para sobrevivir a la continua presión de los compuestos químicos sobre las generaciones de parásitos de cualquier especie. La adquisición de la resistencia los habilita para evadir la acción de los químicos que normalmente eliminarían a la mayoría de los parásitos, habilidad que progresivamente se va difundiendo en la población porque los fármacos van eliminando a los parásitos susceptibles, al tiempo que seleccionan en los sobrevivientes los genes de resistencia que serán heredados por las generaciones posteriores. Entonces, la resistencia es genética y heredable.

La resistencia se define como la capacidad que tiene una población de parásitos para tolerar dosis tóxicas de sustancias químicas que son letales para

otras poblaciones de la misma especie. Es también la disminución de la eficacia de un antihelmíntico contra una población de parásitos que es susceptible a dosis terapéuticas de esa droga. Es decir, no hay susceptibilidad en los nematodos o se encuentra disminuida por el efecto de las dosis letales de la droga.

La resistencia está determinada genéticamente y es la heredabilidad la característica más importante de este fenómeno, en el cual la presión que ejercen los compuestos químicos va eliminando de manera selectiva a los nematodos susceptibles de la población genéticamente heterogénea, hasta producir un incremento de individuos portadores de genes que les confieren resistencia a los medicamentos y que serán transmitidos a la próxima generación.

En ocasiones, puede suceder que la resistencia sea confundida con la ineficacia de un antihelmíntico. Estos dos conceptos deben ser aclarados suficientemente. Un medicamento es ineficaz cuando es incapaz de producir un efecto biológico –por ejemplo, mortalidad o parálisis– al usar una dosis determinada, pero sin la participación de la genética del parásito. Tampoco la ineficacia debe confundirse con la tolerancia de los parásitos. Ésta es entendida como la habilidad natural que tiene una población de endoparásitos para sobrevivir al primer contacto con un antihelmíntico. Puede variar en poblaciones de la misma especie, dependiendo de la droga usada y del método de aplicación.

Así mismo, la disminución de la eficacia de una droga debe distinguirse de las variaciones que puedan presentarse en la sensibilidad de un medicamento por:

- Estadios diferentes del ciclo de vida del parásito.
- Sexos diferentes.
- Variantes geográficas de la misma especie de parásito.
- La misma especie de parásito en diferentes hospedadores.
- Diferentes especies de parásitos.

En una población de parásitos algunos individuos, por naturaleza, pueden ser insensibles a una droga, es decir, son resistentes, ya sea porque carecen de receptores para que se unan a la droga o por imposibilidad del fármaco para penetrar a su sitio de acción. En este caso, se habla de *resistencia intrínseca*, y el ejemplo típico es la resistencia de los tremátodos y céstodos a los endectocidas. Otros parásitos, que inicialmente son susceptibles a la acción

terapéutica de un fármaco, pueden dejar de serlo y hacerse resistentes luego del primer contacto que tengan con un fármaco determinado. Cuando esto ocurre se está frente a casos de *resistencia adquirida*, que se desencadena por modificaciones genéticas que operan en estos parásitos y se heredan de generación en generación.

Las principales modificaciones genéticas que operan en el proceso de la resistencia adquirida son:

- a. *Mutación*. El ADN de la célula susceptible se altera produciendo modificaciones en la función de algún componente celular. La mutación ocurrida no permite que la droga produzca su efecto farmacológico y siempre selecciona a la población resistente, haciendo que las próximas generaciones sean descendientes de las mutantes resistentes.
- b. *Amplificación génica*. Algunos genes codifican para que se produzcan sustancias importantes para el efecto farmacológico de un compuesto químico, pero cuando estos genes se incrementan en forma exagerada se aumentan también estas sustancias, tornando a estos parásitos resistentes a las concentraciones de la droga que son efectivas en condiciones normales.
- c. *Transferencia génica*. Esto ocurre cuando un parásito adquiere material genético del exterior, transformándose en resistente a la acción farmacológica de una droga luego de incorporar este material en su cromosoma.

Esta transferencia puede ocurrir a través de los siguientes mecanismos:

- i) *Transformación*: cuando los genes que confieren resistencia a una droga son captados del medio ambiente por una célula sensible a este compuesto y se incorporan en su cromosoma.
- ii) *Transducción*: cuando los genes de resistencia son transportados desde una célula bacteriana a otra por medio de un bacteriófago; esto es lo que ocurre en bacterias gram positivas, como los estafilococos resistentes a la penicilina.
- iii) *Conjugación*: cuando los genes de resistencia a una droga en un plásmido son transferidos desde una célula a otra de forma directa por un pili sexual, como en el caso de algunas bacterias como *Shigella* y *Escherichia coli*.

La resistencia puede desencadenarse hacia una o varias drogas con similar o diferente mecanismo de acción. De acuerdo con esto, la resistencia puede ser cruzada, paralela o múltiple.

*Resistencia cruzada:* ocurre cuando un parásito desarrolla resistencia a compuestos químicos con mecanismos de acción diferentes a aquéllos cuya resistencia está ya presente. Un ejemplo puede ser la resistencia desarrollada por *O. ostertagi* a la ivermectina y al levamisol.

*Resistencia paralela o colateral:* es aquella en la que un parásito desarrolla resistencia a medicamentos que tienen igual mecanismo de acción. La resistencia a un antihelmíntico es producto de la selección llevada a cabo por otro compuesto. Ejemplos de ello son la resistencia desarrollada por *H. contortus* al parbendazol y al fenbendazol o la resistencia que pueda presentarse en parásitos al levamisol/morantel-pirantel, que tienen un mecanismo de acción similar aunque son químicamente diferentes.

*Resistencia múltiple o cruzada inespecífica:* cuando los parásitos desarrollan resistencia a dos o más grupos de antihelmínticos químicamente diferentes y con mecanismos de acción diferentes. La resistencia se desarrolla de manera independiente para cada grupo antihelmíntico o como resultado de resistencia cruzada. Al respecto, en dos experimentos llevados a cabo con cabras y ovejas en Kenia, se encontró resistencia a los antihelmínticos fenbendazol, ivermectina y levamisol en cepas de *Trichostrongylus spp.*, *H. contortus* y *Oesophagostomum spp.*

La resistencia no es un problema nuevo, es más bien un problema antiguo, especialmente en países con un alto grado de desarrollo de la industria ovina, particularmente Australia. Esta es la razón para que haya más documentación sobre la prevalencia en los pequeños rumiantes y escasos reportes en bovinos. Las razones que explican las diferencias entre estas dos especies son:

- Diferencias en la genética y fisiología: está demostrado que los pequeños rumiantes tienen poca habilidad para regular los nematodos gastrointestinales por sus pobres desarrollos inmunitarios para enfrentarlos con éxito, haciendo necesarios los tratamientos en adultos y jóvenes para el mantenimiento de su salud.
- Limitada biodisponibilidad de los antihelmínticos, especialmente en cabras, a causa de la influencia del *by-pass* del rumen y a la vida media rela-

tivamente corta de los antihelmínticos de amplio espectro. Esta situación obliga también a incrementar el número de tratamientos para control de los endoparásitos.

- Mayor tamaño de la población en refugio en los sistemas de producción bovina, debido al número menor de tratamientos en esta especie y a la ausencia de tratamientos en animales adultos, a diferencia de lo que ocurre en ovinos. Este manejo es el que permite que las pasturas se mantengan siempre contaminadas con nematodos que provienen de animales no tratados con antihelmínticos, lográndose con ello un porcentaje alto de parásitos “en refugio” en las praderas. Está demostrado que a mayor población refugio, más lento será el proceso para el desarrollo de la resistencia.
- Diferencias en los sistemas de pastoreo entre las dos especies.
- Diferencias marcadas en el tamaño y la estructura de los *pellets* fecales, compactos en los ovinos y caprinos, y los bolos fecales de bovinos. Estas diferencias estructurales influyen tal vez en el número y en la dinámica de larvas infectivas de las poblaciones resistentes o susceptibles en las praderas. Es decir, las heces de bovinos actúan como cojín cobertor y protector de los estados de vida libre de los nematodos de bovinos, aumentando la población “en refugio” y posibilitando una presión de selección menor y un desarrollo más lento de la resistencia. Por el contrario, la desecación y desintegración rápida de los *pellets* fecales de los pequeños rumiantes hacen que sea menor la protección ofrecida por estos *pellets* a las larvas infectivas, con lo que se disminuye la población en refugio y, en consecuencia, se hace mayor la presión de selección para resistencia.
- Número alto de larvas hipobióticas, que constituyen la infrapoblación y representan una longevidad mayor, como en el caso de las cabras, haciendo que estos rumiantes estén sujetos a más exposiciones a fármacos, aportando así de modo significativo a los procesos de selección y, por lo tanto, a acelerar el desarrollo de la resistencia.

## ASPECTOS GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA

La resistencia es de naturaleza genética, eso quiere decir que su tasa de desarrollo es influenciada por mecanismos genéticos, que hacen referencia al número de genes involucrados en el proceso y a su carácter de dominancia o recesividad.

Por dominancia de genes se entiende la habilidad que tienen los genotipos heterocigotos (contienen un gen resistente, 1R, y un gen susceptible, 1S), para sobrevivir a la exposición de un determinado antihelmíntico, en la dosis recomendada por el laboratorio productor. En las circunstancias en que un alto porcentaje similar de heterocigotos (RS) y homocigotos (SS) es eliminado por un tratamiento antihelmíntico, se dice que el gen  $r$  es recesivo, es decir, que el carácter de resistencia no se expresa. De manera contraria, cuando los genotipos RS tienen la misma habilidad que los genotipos homocigotos (RR) para sobrevivir a la exposición al medicamento antihelmíntico, se dice que el gen R es dominante.

Cuando la frecuencia de genes de resistencia es baja, la mayoría de los genes presentes en la población son genotipos RS. En esta situación, si los genes son recesivos, la sobrevivencia de los parásitos será muy pobre y la resistencia se desarrollará muy lentamente. Pero si los genes R son dominantes, la mayoría de los genotipos RS sobrevivirá al tratamiento y la resistencia se desarrollará más rápidamente.

Se conocen informes que señalan que la resistencia al benzimidazol en *T. colubriformis* y *H. contortus* involucra dos o más genes independientes con característica recesiva-incompleta. La resistencia de *T. colubriformis* al levamisol es heredada como una característica recesiva ligada al sexo y probablemente regida por un gen o grupo de genes relacionados muy estrechamente; pero, por el hecho de tener los machos un solo cromosoma X y las hembras dos, la resistencia es dominante en los machos. Por el contrario, la resistencia en *H. contortus* es heredada como una característica recesiva no ligada al sexo. Una consecuencia de esto es que, hasta ahora, la resistencia al levamisol en *T. colubriformis* es común y en *H. contortus*, muy rara.

Aunque se conoce poco sobre los aspectos genéticos involucrados en la resistencia a la ivermectina, los resultados de algunos estudios señalan que la resistencia a este compuesto químico en *H. contortus* es heredada como una característica autosomal completamente dominante, cuya expresión está influenciada por el sexo, siendo la eficacia contra las hembras RS menor que en los machos RS, mientras que en *O. circumcincta* es también heredada como una característica completamente dominante. Una situación diferente se presenta con *T. colubriformis* ya que la resistencia en este parásito es heredada como un parcial dominante, característica que tal vez no es controlada por un solo gen.

La implicación de esta situación es que la resistencia a la ivermectina se hereda como una característica dominante o parcialmente dominante y que, una

vez que los genes hacen presencia en las poblaciones, la resistencia se desarrolla tan pronto se use este compuesto químico, resaltándose la importancia que tiene la desparasitación y la cuarentena de animales que provengan de otras fincas, con el objeto de impedir que la resistencia a este fármaco se extienda.

El desarrollo y la extensión de la resistencia están determinados por principios genéticos, no obstante en su desarrollo intervienen otros factores, como la frecuencia de tratamientos, las subdosificaciones, el potencial reproductivo diferente de las especies parasitarias, el tamaño de la población en refugio. Esta resistencia puede ser explicada por la teoría de la evolución de la siguiente manera: en una población original de parásitos existen pocos individuos con capacidad para sobrevivir a un antihelmíntico. Cuando un tratamiento es aplicado a un hospedador infectado, lo que hace el medicamento es eliminar a los parásitos susceptibles, de tal manera que la próxima generación de parásitos estará constituida por unos parásitos resistentes, que son minoría en el conjunto de la población parasitaria; estos parásitos resistentes transmitirán la habilidad de sobrevivencia a su progenie, que estará constituida por parásitos resistentes y no resistentes, a un grado fijo que varía entre individuos. Si la característica que provee la resistencia es determinada por un gen, la resistencia se desarrollará de manera rápida, mientras que si está regida por varios genes –resistencia poligénica–, éstos necesitarán actuar juntos para poder expresar la característica, y a resistencia tardará más tiempo en expresarse.

Si bien el proceso de resistencia involucra elementos toxicológicos y bioquímicos en su génesis, su característica más importante es su naturaleza genética; esto quiere decir que, aunque los genes resistentes existen a bajas frecuencias antes de que se usen los compuestos, los nematodos que poseen genes de resistencia son seleccionados por la presión que producen los antihelmínticos empleados. Este mecanismo de seleccionar para resistencia es lo que se conoce como *presión de selección*, entendida como la capacidad que tienen los antihelmínticos para escoger –seleccionar– ciertos parásitos de una población. La presión de selección la determina la dosis del compuesto y la proporción de población parasitaria expuesta a la droga, y puede ser medida como la proporción de cada generación, que es la progenie, que sobrevive a un particular tratamiento antihelmíntico.

Cuando existen pocas larvas infectivas en las pasturas que escapan a la exposición medicamentosa y cuando el tratamiento deja pocos sobrevivientes, se considera que la presión de selección es alta; en cambio, la presión de selección es baja cuando la proporción de estados de vida libre que no entran en contacto

con el antihelmíntico es grande. Entonces, si los tratamientos son realizados en la época en que todos los parásitos de los predios están alojados en los animales tratados –lo que puede ocurrir en épocas de sequía o veranos intensos–, la presión de selección será rigurosa, o eficiente, como algunos autores la señalan.

Existen algunos factores que influyen la presión de selección para resistencia y están fuera de las medidas de control, como son los siguientes:

### ***Genética del parásito***

- Los alelos de resistencia pueden ser dominantes, como ocurre en la resistencia a las avermectinas y/o las milbemicinas. En este caso, si los heterocigotos son resistentes, la frecuencia de alelos será menor que si la resistencia es recesiva.
- El número de genes involucrados en la resistencia. Pueden ser pocos genes, o incluso uno solo, los determinantes de la resistencia. La resistencia será mayor cuando es un solo gen el involucrado en la resistencia, que cuando son varios los que hacen presencia.
- La diversidad genética alta de los nematodos gastrointestinales, acompañada de poblaciones grandes de estos parásitos, incrementa la probabilidad de que los alelos de resistencia se hagan presentes en una frecuencia alta.
- Cuando los parásitos resistentes incrementan su desempeño, comparado con el de los susceptibles, o cuando la resistencia está ligada a otros genes relacionados con el desempeño, entonces la resistencia se extenderá en la población.

### ***Biología del parásito***

- Cuando los parásitos tienen un tiempo corto de generación y una fecundidad alta, se incrementa la frecuencia de alelos de resistencia en la población, ya que se producen muchos parásitos de varias generaciones en corto tiempo.
- En los ciclos de vida directos, el desempeño asociado con alelos de resistencia no se disipa por el paso a través de un hospedador intermedio.
- La movilidad de las poblaciones parasitarias, en particular, cuando los hospedadores son trasladados.

- Cuando ocurren bajos niveles de parásitos no tratados en refugio.

### *Relaciones hospedador-parásito*

- La presión de selección es alta en los parásitos más patógenos, ya que las infecciones producidas por éstos requieren un número mayor de tratamientos.
- Una población reducida de larvas hipobióticas disminuye la población en refugio.

### **MANEJO DE LA PRESIÓN DE SELECCIÓN**

La presión de selección puede ser manejada, pues está bajo el control de los seres humanos. Para hacerlo, es necesario saber en qué aspectos y dónde disminuir esta presión. Se han señalado los siguientes factores que deben tenerse en cuenta para el manejo de la presión de selección:

- La naturaleza química del fármaco y su propensión a seleccionar para resistencia.
- La farmacocinética de los antihelmínticos. Al respecto, se recomienda el uso de drogas de acción corta y no los de larga acción, para evitar la exposición de los parásitos a dosis subterapéuticas resultantes del incremento del período de vida media de estas sustancias químicas.
- Usar medicamentos de alta eficacia y evitar las subdosificaciones.
- Programar el uso de antihelmínticos de tal modo que se mantenga siempre una alta proporción de parásitos en refugio.
- Implementar estrategias de tratamientos, teniendo en cuenta el tiempo, que obedezcan a planes de manejo adecuado, con el fin de no reducir al extremo los estados de vida libre de los nematodos en el ambiente. Es recomendable, de acuerdo con las posibilidades particulares de cada predio, implementar prácticas adecuadas de rotación de potreros y/o alternar hospedadores de diferentes especies, como las rotaciones bovinos-ovinos.
- Emplear otras herramientas de control, diferentes a las químicas.

## FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL DESARROLLO Y EXTENSIÓN DE LA RESISTENCIA

La resistencia ocurre como un fenómeno de carácter preadaptativo de los parásitos, en que el gen o los genes que confieren resistencia existen en las poblaciones parasitarias como alelos poco frecuentes antes de la primera exposición a un antihelmíntico. Esta situación, acompañada del uso continuo de antihelmínticos, les da ventajas de supervivencia a los nematodos portadores de genes de resistencia, en razón del incremento de una presión de selección eficiente.

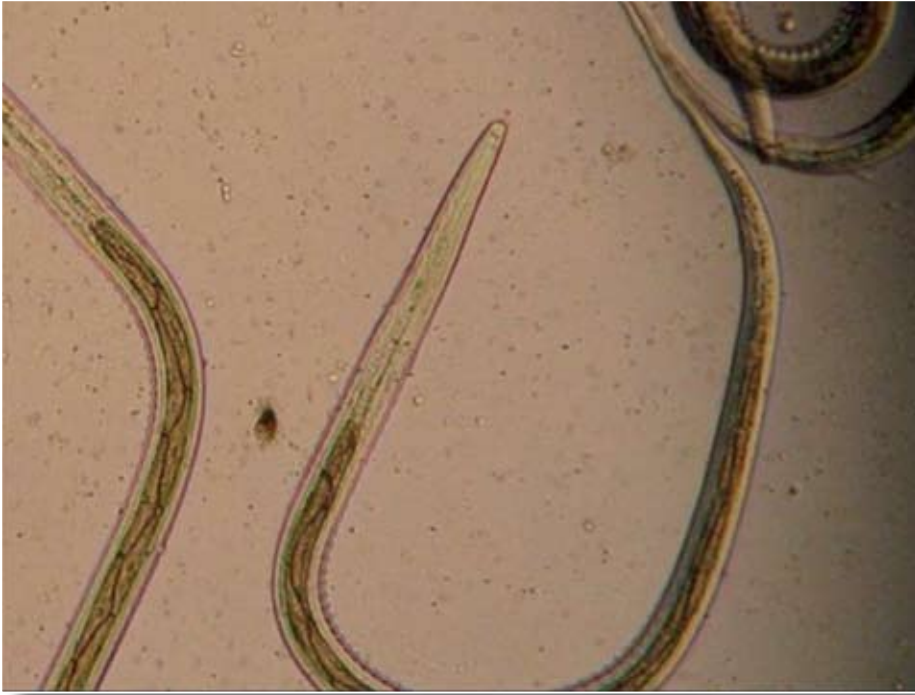
Se han realizado estudios para comprender las bases moleculares de la resistencia antihelmíntica, en contraste con los pocos que se han hecho para saber cuáles son los factores responsables o que contribuyen a su desarrollo, que deben ser conocidos para dar recomendaciones claras y precisas, con el objeto de retardar el surgimiento de la resistencia en los sistemas de producción ganaderos.

Si se parte de la presunción de que la predisposición genética está presente en la población de parásitos, para que la resistencia se desarrolle son absolutamente necesarias dos circunstancias : primera, que los antihelmínticos seleccionen parásitos para resistencia y, segunda, que los parásitos resistentes se reproduzcan exitosamente y encuentren un hospedador.

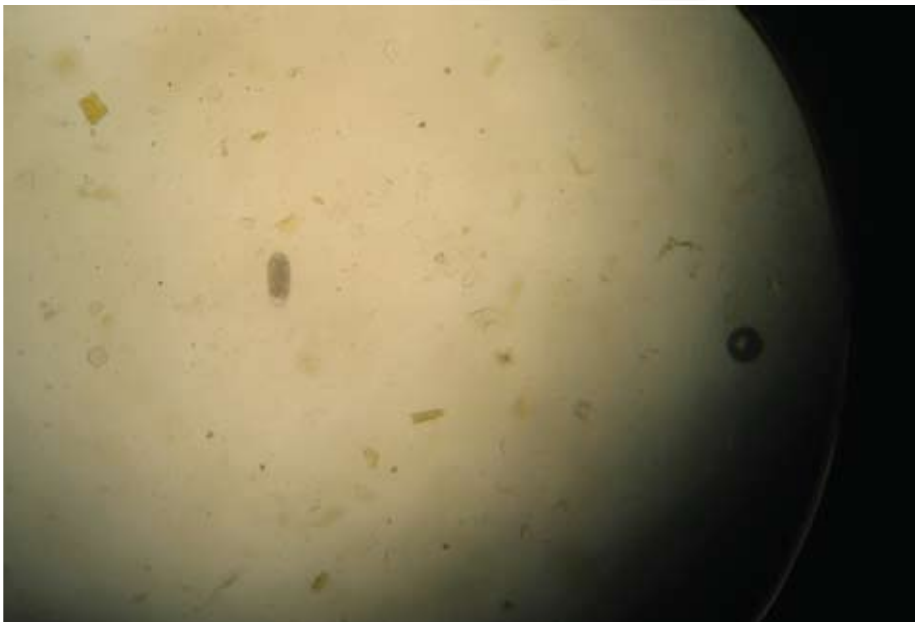
El desarrollo de la selección para resistencia es un fenómeno de origen multifactorial y complejo, que involucra factores genéticos, biológicos y externos u operacionales. Sólo los factores operacionales están bajo el control de los seres humanos.

Los factores genéticos hacen referencia a las características genéticas de los parásitos, como: dominancia de los alelos de resistencia, número de genes involucrados, frecuencia inicial de genes de resistencia, diversidad genética de la población, desempeño relativo de los parásitos resistentes y oportunidades para recombinación genética. Los factores biológicos se catalogan como bióticos y de comportamiento; los bióticos tienen que ver con: tiempo de generaciones, descendencia por generación y patrones de reproducción, mientras que los factores de comportamiento están relacionados con el flujo de genes y la oportunidad de selección, que incluyen aislamiento, movilidad, migración, monofagia o polifagia –rango de hospedadores– y refugio.

Los factores externos u operacionales tienen que ver con: mecanismo de acción de las drogas y su naturaleza química, grado de persistencia y elimina-



**Foto 1.** Larva infectiva de nematodo gastrointestinal de bovinos.



**Foto 2.** Huevo de nematodo gastrointestinal de bovinos.

ción de los medicamentos, umbral de aplicación, estado de vida seleccionado, modo de aplicación de la droga, número de aplicaciones, uso espacial de los tratamientos y empleo de otras formas de control de parásitos.

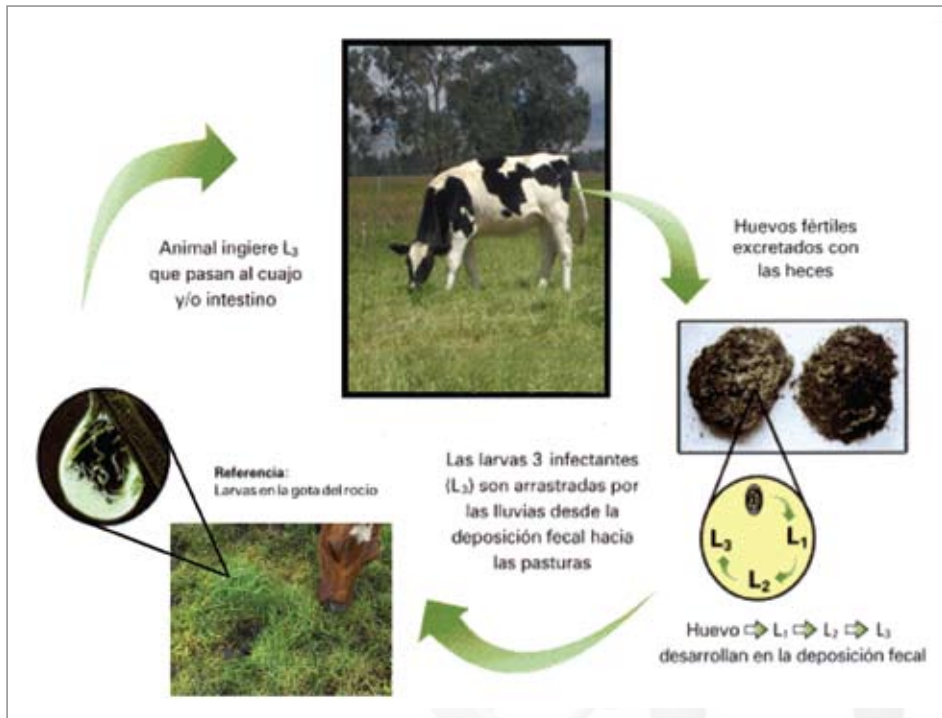
El origen y el desarrollo de la resistencia pueden estar influenciados por los siguientes factores:

- Potencial biótico o reproductivo de los parásitos.
- Característica genética de los parásitos.
- Tamaño de la población en refugio en la época de los tratamientos.
- Época o momento de los tratamientos.
- Manejo de las pasturas.
- Intensidad o frecuencia de los tratamientos.
- Introducción de cepas de parásitos resistentes.
- Uso frecuente del mismo principio activo.
- Subdosificación de los antihelmínticos.
- Tratamientos estratégicos.
- Uso de antihelmínticos de larga acción.
- Inmunidad del hospedador.
- Intervalo de la rotación de los principios activos.

### ***Potencial biótico o reproductivo de los parásitos***

Los parásitos que tienen un potencial reproductivo alto contribuyen fuertemente a acelerar el desarrollo de la resistencia, ya que pequeñas poblaciones de parásitos pueden producir grandes poblaciones en corto tiempo. La selección para resistencia se desarrolla entonces en forma rápida, como puede ocurrir con *H. contortus*, en especial, si el clima es favorable para las formas no parasíticas. En estos casos, la situación de favorabilidad les permite cambiar sucesivamente la composición genética de la descendencia, sobre todo cuando son objeto de una fuerte presión de selección.

Se ha determinado que los parásitos que tienen ciclos de vida directos (figura 2) y cortos son objeto de mayor presión de selección para resistencia que aquéllos que poseen ciclos de vida indirectos, porque los diversos esta-



**Figura 2.** Ciclo directo de nematodos gastrointestinales de bovinos.



**Foto 3.** Las larvas en refugio se encuentran en pasturas contaminadas y en los animales no tratados con antihelmínticos.

dios de sus ciclos de vida están sometidos a procesos de selección ambiental, fuerza opuesta a la presión de selección para el desarrollo de resistencia a los antiparasitarios.

### *Característica genética de los parásitos*

La tasa de desarrollo de la resistencia está influenciada también por el número de genes que participan en la resistencia y por su grado de dominancia. Cuando es un solo gen dominante, el desarrollo de la resistencia será más rápido, como ocurre en cepas de *H. contortus* resistentes a las avermectinas y en cepas de *T. colubriformis* resistentes al levamisol, en las que, además, es una característica ligada al sexo. Inversamente, la selección para resistencia será más lenta si ésta se hereda como un carácter dominante/recesivo incompleto y está determinada por dos o más genes; cuando la resistencia es poligénica, los genes necesitan trabajar todos juntos, existiendo genotipos que contienen alelos *s* que no son removidos del todo por los antihelmínticos y que contribuyen con ellos en las próximas generaciones.

### *Tamaño de la población en refugio en la época de los tratamientos*

Es conocido el principio de que para la protección de áreas de cultivos éstas deben tratarse mínimamente con insecticidas, con el fin de garantizar que los insectos no tratados constituyan el reservorio que produzca la nueva generación, en vez de que ésta provenga de los individuos que sobrevivieron al tratamiento. El principio de permitir que los organismos escapen a la selección para resistencia no es nuevo y es conocido como 'refugio'; sin embargo, no es tenido en cuenta en las estrategias de control de helmintos.

El concepto de refugio se ha usado en disciplinas como la ecología y la entomología agrícola y en temas como el control biológico. Ésta se conoce como la fracción de la población que no es sometida a presión de selección por una medida de control dada. O también, la población 'en refugio' es la proporción de parásitos que no entra en contacto con un compuesto químico determinado, no siendo afectada por él por estar fuera del hospedador, en la pradera, y escapando así a la selección para resistencia.

El principio que sustenta el concepto de refugio es que esta subpoblación de parásitos contiene un número de individuos susceptibles que diluyen los genes de resistencia, dando la oportunidad de mantener en los predios la resistencia en niveles aceptables. Sin embargo, una vez establecida en una finca la

resistencia a niveles altos, es difícil la dilución de los genes de resistencia con la fracción de parásitos susceptibles.

El refugio implica componentes espaciales y temporales, cuando se hace referencia a los nematodos del tracto digestivo; es decir, el porcentaje de población en refugio está constituido por los estados de vida libre (larvas L3) sometidos al tratamiento antihelmíntico que se le suministra a los hospedadores y representa más de 90% de los nematodos gastrointestinales de los rumiantes. Se debe tener claro que las larvas hipobióticas (L4) no se consideran en refugio porque son eliminadas por varios antihelmínticos, como en el caso de los benzimidazoles cuando la dosis se duplica.

El tamaño del refugio al momento del tratamiento con el antihelmíntico va a determinar el grado de contribución de los parásitos que sobreviven al tratamiento a las subsiguientes generaciones, siendo éste posiblemente el principal factor causal de la resistencia. Entonces, el refugio es importante en la medida en que determina la tasa de desarrollo de la resistencia, teniéndose en cuenta que es en ésta donde los individuos mantienen sus caracteres genéticos de susceptibilidad, por no estar en contacto con las drogas. Inversamente, los parásitos adultos dentro del hospedador seleccionan sus genes de resistencia siempre que tenga contacto con los vermífugos.



**Foto 4.** Durante el pastoreo, las larvas en refugio son ingeridas por los bovinos.

Durante años fue común recomendarles a los productores desparasitar a los bovinos y trasladarlos posteriormente a potreros libres de larvas infectivas –pasturas seguras– para evitar su reinfección. Pero, si bien esta estrategia contribuye a un control de las infecciones por parásitos susceptibles, también se torna en un factor de riesgo para el inicio y la extensión del fenómeno de resistencia en las fincas. Esto quiere decir que la época de los tratamientos y el tiempo de rotación de potreros son también factores importantes en la tasa de desarrollo de la resistencia.

El refugio juega un papel más importante en la selección para resistencia antihelmíntica que otros factores comúnmente mencionados, como la frecuencia de los tratamientos y las subdosificaciones. Esto quiere decir que la resistencia depende de la contribución que hagan a la próxima generación aquellos parásitos que sobreviven a un tratamiento, lo que, a su vez, depende del número de parásitos en refugio, o sea, del número de parásitos que no hayan sido expuestos al medicamento. Sin embargo, el refugio es sólo un aspecto del marco general de la resistencia.

Cuando el tamaño de la población en refugio es alto, las larvas que son ingeridas por los hospedadores son pocas en comparación con las que permanecen en las praderas luego del pastoreo, en espera de un nuevo hospedador. Las larvas que no son ingeridas mantienen sus características de susceptibilidad, de tal manera que en futuras infecciones se mezclan los genes de susceptibilidad provenientes de las larvas que quedaron en refugio, con los genes de resistencia de las larvas provenientes de progenitores que fueron seleccionados por los antihelmínticos, dando como resultado híbridos con características de susceptibilidad, lo que permite retrasar la aparición de poblaciones de nematodos resistentes. La mezcla de los parásitos que sobreviven a los tratamientos con los que permanecen en las praderas constituye lo que se denomina 'dilución', siendo importante y necesario el efecto de la dilución para detener el surgimiento de la resistencia cuando los antihelmínticos son aún efectivos.

Por el contrario, cuando muchas o todas las larvas infectivas son ingeridas en corto tiempo por los animales durante el pastoreo, el refugio es pequeño, desapareciendo casi en su totalidad. En estas circunstancias, los parásitos seleccionan sus genes al tener contacto con los antiparasitarios, lo que conducirá a un desarrollo rápido de la resistencia. Una situación de refugio pequeño es aquella en la que el pasto es consumido en su totalidad por los bovinos antes de que sean trasladados a un nuevo potrero. Este fenómeno puede ocurrir en regiones o países donde los antihelmínticos se suministran en épocas de sequía, cuando el tamaño de la pobla-

ción en refugio se ha reducido de manera ostensible, incrementándose la presión de selección porque los parásitos resistentes que han sobrevivido tienen la oportunidad de repoblarse en las praderas que están poco pobladas.

Entre los principales factores que influyen en el número de parásitos en refugio se destacan:

#### *Número de larvas en las pasturas*

En relación con este punto, es importante reiterar que en el pasado fue común y frecuente recomendar la estrategia de 'dosifique y traslade', haciendo referencia a la necesidad e importancia de trasladar los animales, tan pronto fueran tratados, a potreros en descanso y limpios, es decir, a aquellos potreros que tuvieran un número bajo de larvas infectivas. Si bien esta estrategia mostraba sus bondades en términos de reducir las pérdidas de productividad atribuidas a parasitismo, hoy se cree que, por el contrario, esta alternativa es bastante efectiva en seleccionar para resistencia, pues la contaminación de las praderas a las que son trasladados los animales provendría sólo de los parásitos sobrevivientes al tratamiento.



**Foto 5.** Los descansos prolongados de las praderas causan la muerte de larvas infectivas.

El esquema de mantener pasturas contaminadas es una buena práctica para detener el desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos y preservar, de paso, la vida útil de los compuestos químicos, aunque vaya en contra de las recomendaciones dadas hoy por productores y aún por médicos veterinarios. Sin embargo, esta nueva orientación será útil siempre y cuando en las fincas no se introduzcan cepas resistentes de parásitos provenientes de otras explotaciones. En este sentido, hay experiencias positivas en Suráfrica, país en donde se ha demostrado la reversión de resistencia en explotaciones ovinas bajo ciertas condiciones, mediante la introducción de cepas susceptibles, en particular, de *H. contortus*.

#### *Porcentaje de animales tratados*

La experiencia de tratar sólo a algunos animales ha demostrado el éxito de esta práctica para retardar la aparición de resistencia antihelmíntica. Por ejemplo, si en las explotaciones lecheras se tratara sólo a los animales durante el primer año de vida, es muy probable que la mayor parte de los nematodos que posteriormente van a contaminar las pasturas provengan de los animales adultos, de tal manera que los parásitos sobrevivientes provenientes de los animales tratados tendrán una contribución insignificante en la futura contaminación de los potreros.



**Foto 6.** El mayor número de animales tratados disminuye el tamaño de la población en refugio e incrementa la presión de selección.

Esta práctica se ha señalado como la razón principal de los pocos casos que, hasta el momento, se han reportado de resistencia a los antihelmínticos en bovinos, no así en ovinos. Sin embargo, los hallazgos recientes de resistencia en nematodos de bovinos ponen de presente cómo un manejo inadecuado puede hacer de la resistencia un problema bastante serio en los sistemas de producción bovino. Se considera que si 20% de los animales no se trata con antihelmínticos, se consigue retardar el desarrollo de la resistencia, con la ventaja adicional de que se reducen los costos por tratamientos. La bondad de esta estrategia es que contribuye al mantenimiento de la descendencia proveniente de los susceptibles, que serán los encargados de diluir el efecto de las subpoblaciones descendientes de los resistentes (80%). Infortunadamente, esta estrategia no es incorporada del todo por los productores.

Contrario a este principio, está la costumbre arraigada en muchos productores del sistema de producción de leche de aplicar tratamientos antihelmínticos a las vacas luego del parto, tal vez por las dificultades que ciertas vacas tienen para recuperar el peso como consecuencia del parasitismo periparto. Esta práctica no es para nada aconsejable por las siguientes razones:



**Foto 7.** El tamaño de la población en refugio está relacionado también con la época en que se realicen los tratamientos y el manejo que se haga de las pasturas.

- a) Este tipo de manifestaciones no son constantes, son más bien variables y, en muchos casos, pueden hacerse correcciones valiéndose de mejoras en la nutrición de estos bovinos.
- b) Estas manifestaciones no se reflejan en el conjunto de las vacas en producción, es propio más bien de los animales más susceptibles; caso en el que es aconsejable asumir unos riesgos mínimos de pérdida en la producción animal, en aras de mantener una abundante población en refugio que redunde en retardar la aparición de resistencia en los predios.

#### *Eliminación de todos los estados de desarrollo de los parásitos en los hospedadores*

Este es el tercer factor importante que influencia el número de parásitos en refugio. Está demostrado que la hipobiosis en la mucosa gastrointestinal es una de las maneras mejores de sobrevivir que tienen los nematodos a las condiciones ambientales adversas, de tal manera que si estas formas inmaduras de los parásitos no son expuestas a los principios activos de las drogas, contribuirán de modo determinante a incrementar la población refugio, disminuyéndose así el surgimiento y el desarrollo de la resistencia.

Al respecto, son interesantes los estudios realizados para indagar sobre la tasa de desarrollo de la resistencia con relación a la eficacia de algunos antihelmínticos para eliminar larvas en estados hipobióticos y a la frecuencia de genes de resistencia en los individuos. Así, se ha demostrado que si los genes de resistencia al levamisol y pirantel son raros o escasos en los nematodos de caballos, la resistencia tardará en aparecer porque estos compuestos químicos no matan las larvas inhibidas de las ciatostomas. Por el contrario, dado que la moxidectina es muy efectiva contra las larvas inhibidas, el número de parásitos disminuirá y se presentarán las posibilidades de un surgimiento rápido de la resistencia.

En ovinos, la investigación muestra que la moxidectina puede seleccionar más rápidamente para resistencia en *H. contortus* que la ivermectina. Así mismo, está demostrado que los tres principales grupos de antihelmínticos –benzimidazoles, levamisol/pirantel y lactonas macrocíclicas– actúan contra las larvas hipobióticas en ovejas, demostración que puede explicar parcialmente por qué la resistencia es muy común en esta especie. En cambio, el levamisol no es efectivo por lo general contra larvas en hipobiosis, de modo que hasta ahora la resistencia en esta especie está relacionada con los benzimidazoles y las lactonas macrocíclicas.



**Foto 8.** La época de los tratamientos influye en el tamaño de la población en refugio.



**Foto 9.** El período de descanso influye en la supervivencia de las larvas en refugio.

### ***Época o momento de los tratamientos***

La época de los tratamientos es un factor importante que influye fuertemente en el desarrollo de la resistencia, ya que puede favorecer o no una presión alta y eficiente de selección. Si los tratamientos se realizan en épocas de sequía, cuando la proporción de larvas de vida libre es escasa o nula en las praderas y los animales contienen los parásitos adultos que han sobrevivido a los tratamientos, la contaminación de las pasturas provendrá de los huevos excretados por las poblaciones de parásitos resistentes, de modo que la resistencia se acelerará.

En estos casos, la recomendación es que los tratamientos deben hacerse de manera selectiva, es decir, tratando sólo a una parte de los animales de los predios. En caso contrario, si los tratamientos antihelmínticos coinciden con un número bajo de larvas en las pasturas, se genera una presión de selección para resistencia mayor que cuando éstos se hacen en momentos en que el número de larvas es alto.

### ***Manejo de las pasturas***

Aparte del uso de antihelmínticos para el control de los parásitos, el manejo adecuado de pasturas es otra herramienta de control. Sin embargo, esta estrategia no deja de ser bastante laboriosa y, muchas veces, costosa, volviéndose impráctica. Se ha demostrado que en las regiones tropicales las larvas infectivas sobreviven poco tiempo, por lo que es posible que en las pasturas que tengan descansos superiores a seis semanas desaparezcan las larvas infectivas. Por lo tanto, una de las estrategias de mayor presión de selección para resistencia la constituye un inadecuado manejo de pasturas.

### ***Intensidad o frecuencia de los tratamientos***

Se da como un hecho que la frecuencia de los tratamientos es el principal factor para seleccionar resistencia, señalándose a este factor como una de las estrategias para tener en cuenta en los programas de manejo de la resistencia. Esto se ha soportado con estudios que han encontrado una correlación positiva entre la intensidad de la resistencia y la frecuencia de los tratamientos.

Cuando se usan con frecuencia antihelmínticos de alta eficacia, se eliminan todos los parásitos, excepto los resistentes, posibilitando que sean los únicos parásitos presentes, ya que su presión de selección se incrementa. Esto mismo ocurre cuando se hace uso de subdosificaciones, produciéndose presión de selección de estos parásitos resistentes, en la medida en que per-

miten la supervivencia de los heterocigotos, y asegurándose la reinfección en los huéspedes por la progenie de sobrevivientes, fenómeno que adquiere una importancia especial cuando los animales son trasladados a potreros libres de larvas infectivas.

Una práctica común en los productores ante situaciones de baja eficacia antihelmíntica, es la de incrementar las dosis, las frecuencias y las rotaciones de los antihelmínticos por el afán por lograr su mayor eficacia, consiguiendo con esto que se pase de un estado de resistencia paralela a otro de resistencia múltiple y se agrave la situación antihelmíntica.

Sin embargo, se conocen otros reportes relacionados en particular con los benzimidazoles, en los que se muestra una relación negativa entre el número de tratamientos y el desarrollo de la resistencia, a causa de la baja frecuencia de tratamientos en rebaños de ovejas y de cabras con manejo extensivo, en los que también se ha detectado resistencia, demostrándose que una alta presión de selección no es ni suficiente ni necesaria para originar en la realidad resistencia antihelmíntica; más bien, la dependencia está en relación con el número de parásitos que seleccione el antihelmíntico. En otras palabras, no todas las vermifugaciones tienen una capacidad equivalente de seleccionar para resistencia ni la selección para resistencia es proporcional a la frecuencia de tratamientos, lo que sugiere que la frecuencia de tratamientos tiene que ser vista en relación con las larvas en refugio.

En este mismo contexto, se tiene conocimiento de que la resistencia a las lactonas macrocíclicas es rara en Nueva Zelanda, a pesar de la alta frecuencia de tratamientos empleados para el control de los nematodos gastrointestinales. El concepto de que frecuencia de tratamientos no es sinónimo de desarrollo de resistencia, se ha corroborado también en la región occidental australiana, en donde es frecuente la resistencia a este compuesto químico, haciéndose allí sólo dos tratamientos por año durante cinco años y postulándose que la diferencia en estas prevalencias está relacionada más bien con la favorabilidad de las larvas a lo largo del año en Nueva Zelanda y con la ausencia o el número escaso de larvas durante el verano en el occidente de Australia.

De lo anterior se desprende que el manejo de la resistencia no debe tener como objetivo de reducir la frecuencia de tratamientos *per se*, sino más bien reducir la presión de selección para resistencia, situación esta que es más difícil de lograr por parte de los productores que aquélla.

Esta situación ha dado pie para que algunos autores cuestionen la correlación frecuencia vs. resistencia pues, según ellos, un alto número de tratamientos podría deberse a:

- Presencia real de resistencia a los antihelmínticos, situación en la que los productores tienden a incrementar los tratamientos a medida que observan fallas en las respuestas clínicas de los animales luego de los tratamientos.
- Altos niveles de infección parasitaria, ante lo cual los productores, en aras de mantener sus niveles de producción, incrementan la frecuencia de los tratamientos.

Con base en estas consideraciones, los mismos autores plantean que es posible que la resistencia se desarrolle bajo una presión de selección eficiente en vez de hacerlo bajo una presión de selección aparente; es decir, lo importante es realizar los tratamientos en la época apropiada y no, el número de tratamientos que se haga. Según ellos, la presión de selección es eficiente si los parásitos que sobreviven a los tratamientos contribuyen en buena medida a las generaciones posteriores de parásitos, para concluir que la resistencia es un fenómeno complejo y su resultado depende de factores diferentes a la frecuencia de los tratamientos.

### *Introducción de cepas de parásitos resistentes*

La resistencia antihelmíntica puede introducirse en un predio desde otro(s) cuando hay intercambio comercial de animales o cuando éstos pastorean en predios de diferentes fincas. Se conocen casos de resistencia de nematodos en pequeños rumiantes ocurridos luego de la importación animales desde países con alta prevalencia de resistencia. Lo mismo ha ocurrido en regiones en las que se practica la trashumancia, como en el sur de Francia, donde en determinadas épocas del año los ovinos son trasladados a praderas comunes, incrementándose la posibilidad de adquirir parásitos resistentes de animales provenientes de otros predios.

### *Uso frecuente del mismo antihelmíntico*

El uso frecuente de un mismo antihelmíntico constituye una presión eficiente de selección para resistencia en aquellos nematodos que tienen la habilidad para sobrevivir a un compuesto químico determinado. El fenómeno contrario ocurre cuando se alternan los antihelmínticos, puesto que se reduce la presión de selección que ejerce uno de los antihelmínticos. Al respecto, se conocen estudios que avalan esta afirmación.

En un experimento llevado a cabo en Francia para determinar el efecto de cuatro regímenes de tratamientos sobre la frecuencia de parásitos resistentes

tes en ovejas, mantenidas en parcelas contaminadas artificialmente con cepas resistentes de *T. circumcincta* –25% de parásitos resistentes– durante dos años, arrojó los siguientes resultados: en el grupo de ovejas que recibió en el primer año tres tratamientos y en el segundo año cinco tratamientos con benzimidazol, se encontró que la frecuencia de parásitos resistentes a este fármaco alcanzó el 80%, mientras que en el grupo que recibió en el primer año dos tratamientos con benzimidazol y uno con levamisol, y en el segundo año tres tratamientos con benzimidazol alternados con dos de levamisol, el porcentaje de parásitos resistentes al benzimidazol fue 50%. Estas diferencias importantes demostraron que si se alternan familias de antihelmínticos, es posible retardar la selección de parásitos resistentes al benzimidazol en etapas tempranas del desarrollo de la resistencia.

Estos resultados dan soporte a los encontrados en Colombia, en donde el uso frecuente, y por varios años, de antihelmínticos de la familia de los benzimidazoles ha favorecido el surgimiento de resistencia a esta familia de fármacos, pues es sabido que estos medicamentos son compatibles con la producción de leche en los sistemas de producción y, por lo tanto, son frecuentes los regímenes superiores a seis tratamientos en un año.



**Foto 10.** La resistencia se puede introducir en la finca cuando se llevan animales provenientes de otras fincas.

## *Subdosificación de los antihelmínticos*

¿Cuándo se presenta subdosificación? Cuando la dosis de antihelmíntico que se le administra a un animal es menor que la recomendada por el laboratorio productor, dependiendo del peso vivo del animal, es decir, cuando se le administra a niveles subterapéuticos. La subdosificación ocurre generalmente por una subestimación del peso corporal del animal y no debe confundirse con la biodisponibilidad de los medicamentos, que depende del animal y está más relacionada con su fisiología, con el consumo o no de alimentos antes del tratamiento y con el reflejo del surco esofágico.

La razón por la que se responsabiliza a la subdosificación del desarrollo de resistencia proviene de las subdosificaciones permanentes a que son sometidas las cabras, pues el cálculo de la dosis para esta especie de rumiante está basado, por una parte, en el de las ovejas y, por otra, el metabolismo de los antihelmínticos es más rápido en la primera especie que en la segunda, dando como resultado una mayor resistencia en cabras que en ovejas, por cuenta de las diferencias de biodisponibilidad entre estas dos especies. Sin embargo, no existen evidencias experimentales al respecto.

Pero, ¿cuál es el significado de la subdosificación en términos de desarrollo de resistencia?, ¿de qué manera un antihelmíntico administrado en dosis subterapéuticas contribuye al desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos? El problema de las subdosificaciones es que permiten la sobrevivencia tanto de los parásitos homocigotos resistentes como de los heterocigotos, eliminando sólo a los homocigotos susceptibles.

La subdosificación es frecuente entre los productores, entre otras razones por las siguientes: a) la principal razón es tal vez que las desparasitaciones se hacen sobre la base de la estimación del peso promedio de los animales, b) no se tienen en cuenta las instrucciones de la etiqueta de los fármacos, c) la calibración de las pistolas dosificadoras es inadecuada y d) hay diferencias en las infecciones parasitarias mixtas en cuanto a los grados de susceptibilidad a los antihelmínticos, de modo que el medicamento elimina solamente a los parásitos más sensibles, sin actuar sobre los demás.

Los resultados de modelos matemáticos han demostrado, por ejemplo, que subdosificaciones que permitan la sobrevivencia de todos los parásitos resistentes y de algunos susceptibles, seleccionarán menos para resistencia que aquellos tratamientos que eliminen a todos los parásitos susceptibles y permitan la

sobrevivencia de todos los resistentes. Así mismo, una dosis incrementada que elimine a todos los parásitos susceptibles y a algunos de los parásitos resistentes, seleccionará menos para resistencia, mientras que las dosis que eliminen tanto parásitos susceptibles como resistentes, no seleccionarán para resistencia.

Visto de otra manera, y en relación con el rango de eficacia de los medicamentos, se ha señalado que el incremento en su eficacia, hasta el punto en el que todos los parásitos susceptibles, pero no los resistentes, sean eliminados, aumenta la selección para resistencia. Los incrementos en la eficacia que lleguen hasta el punto de incrementar la eliminación de los parásitos resistentes, disminuye la presión de selección. Esto quiere decir que la tasa de desarrollo de la resistencia antihelmíntica depende de la contribución genética hecha por los parásitos que sobreviven al tratamiento en las próximas generaciones, o sea, que la resistencia va a depender no sólo de su genotipo sino también del número de parásitos. En otras palabras: cuando hay pocos parásitos fuertemente resistentes, que son objeto de dilución con parásitos provenientes del refugio, influirán menos en el incremento de la frecuencia de genes de resistencia en las poblaciones futuras que cuando hay un número mayor de parásitos menos resistentes.

Por otra parte, se reconoce que si se incrementa la dosis de un antihelmíntico y luego los animales se trasladan a pasturas limpias, las praderas se contaminarán con los parásitos que sobrevivan al tratamiento de estos animales, que serán los homocigos RR. Pero si las dosis se reducen, el número de parásitos que sobrevivan será mayor, en este caso, heterocigotos RS, y si se sigue reduciendo la dosis, el número de parásitos sobrevivientes incluirá seguramente a los homocigotos ss. Por lo tanto, si no se tratan todos los animales de un predio, mayor será el número de parásitos ss que sobrevivan al tratamiento y serán los encargados de diluir las poblaciones RR, lo que teóricamente es factible, en términos de detener el desarrollo de resistencia. La pregunta es: ¿cómo identificar los animales que no ameritan tratamientos? Para ovejas, se ha desarrollado el sistema Famacha<sup>2</sup>.

### ***Tratamientos estratégicos***

Por tratamientos estratégicos se entiende a los programas que, basados en el conocimiento de la dinámica de las poblaciones de los parásitos en las fincas,

---

2 Desarrollado por el doctor Faffa Malan, consiste en identificar el grado de anemia en ovinos asociada con la presencia del parásito *H. contortus*, según el color de la conjuntiva ocular, con ayuda de una carta guía de color.

identifican las épocas críticas en que se puedan aplicar los tratamientos, para interrumpir los procesos de multiplicación de los parásitos. Implica un concepto epidemiológico.

A través de experimentos en campo y del uso de modelos matemáticos, se ha demostrado que los tratamientos estratégicos, cuando se realizan en épocas de poca población en refugio, como son las épocas de sequía (verano), permiten un control adecuado de los parásitos, se disminuye el número de tratamientos anuales y se disminuye la contaminación de las praderas en épocas de precipitación pluvial mayor. Estas estrategias de tratamiento, basadas en principios ecológicos, pueden aplicarse para el manejo de la resistencia y de las subpoblaciones no resistentes, siempre y cuando se utilicen principios activos de eficacia antihelmíntica comprobada y no se disponga de otras herramientas de control, especialmente no químicas, como ocurre en los países en vías de desarrollo. De hecho, en estos países sería la opción más viable, si se contara con estrategias adecuadas de transferencia de tecnología.

Sin embargo, los tratamientos estratégicos deben ser revisados para evitar el efecto contrario, es decir, el aceleramiento del desarrollo de la resistencia por la aplicación incorrecta de esta herramienta. Este método puede ser útil, en especial en bovinos, si se garantiza el mantenimiento de una importante proporción de parásitos en refugio, que puede lograrse si no se tratan los animales adultos de las fincas, para quede este modo la contaminación de las pasturas provenga de los animales no tratados; sólo de esta manera se alejaría o se retardaría la aparición de la resistencia. El reto es saber cuáles son los animales que, en realidad, no deben ser tratados.

### *Uso de antihelmínticos de larga acción*

Hasta hace poco los antihelmínticos usados para el control de los nematodos gastrointestinales de rumiantes eran de corta acción y solo hasta hace unos 15 años han aparecido en el mercado compuestos de larga acción o de actividad persistente. Éstos se clasifican por lo general en dos tipos: por un lado, están las drogas con una actividad inicial alta, que decrece luego logarítmicamente en el tiempo, como la moxidectina y el closantel, y, por el otro, los medicamentos intrarruminales, que se conocen como bolos o cápsulas de liberación controlada, y se liberan en el rumen a tasas constantes durante unos 100 días.



**Foto 11.** Los antihelmínticos de actividad persistente pueden conducir a resistencia.

En el primer tipo, se conoce la capacidad de estas drogas para eliminar los parásitos, mientras que en el caso de las drogas de larga acción es poco lo que se sabe sobre su papel en la selección para resistencia. Sin embargo, la experiencia obtenida con otro tipo de pesticidas, como los insecticidas y los herbicidas, revela que los compuestos de larga acción seleccionan para resistencia mucho más que los productos de corta acción.

De forma general, cuando se utilizan drogas de corta o de larga acción el proceso de selección para resistencia podría ser el siguiente: los parásitos tienen comúnmente algunas características genéticas que los hacen menos susceptibles a los antihelmínticos, entonces un tratamiento con un compuesto de corta acción removerá en el animal hospedador a la mayoría, si no a toda, la población de parásitos. Posterior al tratamiento, en un lapso de unas tres semanas (período pre-patente), las nuevas infecciones se establecerán en el animal y se desarrollará la patencia. Durante este período, los parásitos que sobrevivan al tratamiento serán los que contribuyan a la contaminación de las praderas, a través de la excreción de huevos en las heces, situación que les brinda en este período ventajas reproductivas sobre los genotipos susceptibles, lo que se traduce en un incremento de la frecuencia de genotipos resistentes sobre toda la población de parásitos.

Una situación diferente se presenta cuando se utilizan antihelmínticos de actividad persistente, por las consecuencias adicionales que se presentan. En este caso, es más largo el periodo de acción de los fármacos, con más ventajas reproductivas para los parásitos que sobreviven al tratamiento que cuando se usan antihelmínticos de corta duración. Así, por ejemplo, si se usa un antihelmíntico cuya persistencia y protección contra el establecimiento de nuevas infecciones son de cuatro semanas y, además, si el período pre-patente es de tres semanas, entonces el período de ventajas reproductivas para los sobrevivientes al tratamiento será de siete semanas. Esta situación haría que los únicos parásitos contribuyentes con huevos en las pasturas, en ausencia de genotipos susceptibles, serían prácticamente los sobrevivientes, incrementándose, por lo tanto, la población de parásitos resistentes.

De otro lado, durante este período no podrán establecerse las larvas susceptibles que ingieran los hospedadores, lo que sí podrán hacer las resistentes. Por lo tanto, el antihelmíntico no actúa sólo contra los parásitos presentes, sino que continúa filtrando toda la población parasitaria durante su persistencia, haciendo que únicamente los parásitos resistentes puedan sobrevivir o desarrollarse, y aparearse durante este período sólo con otros parásitos resistentes. Sin embargo, este tema aún requiere más investigación.

Podría afirmarse, en general, que las drogas de actividad persistente seleccionan más fuertemente para resistencia que las de corta acción, ya que durante la fase de eliminación los parásitos se ven expuestos a concentraciones disminuidas de la droga de mayor persistencia, que permiten el establecimiento de parásitos resistentes y la eliminación sucesiva de los susceptibles.

### ***Inmunidad del hospedador***

En la actualidad se acepta que el tratamiento con antihelmínticos de ovejas que han desarrollado por completo su inmunidad genera una presión de selección para resistencia mayor que cuando el tratamiento se hace en corderos que aún no lo han hecho, debido a que los adultos están capacitados para impedir que las larvas provenientes de las pasturas se establezcan y se desarrollen en su interior, de modo que se reduce el efecto de dilución de las larvas de los pastos y se incrementa la presión de selección.

### ***Intervalo de la rotación de los antihelmínticos***

Se discute en la actualidad cuál es el período más adecuado para la rotación de los antihelmínticos, sobre la base de mantener subpoblaciones



**Foto 12.** Los bovinos adultos desarrollan una inmunidad sólida frente a los parásitos.

en refugio que retarden el inicio de la resistencia en los predios. La rotación anual ha sido, hasta ahora, la recomendación que contribuye probablemente al retardo de la resistencia, basada en el hecho de que a las poblaciones seleccionadas por el antihelmíntico empleado por un año les quedan sólo dos caminos: morir sin ser ingeridas o ser ingeridas por los hospedadores tratados con un antihelmíntico reemplazante, con un mecanismo de acción diferente.

Sin embargo, la aparición de compuestos químicos de actividad persistente –como las lactonas macrocíclicas–, la existencia de muchos compuestos genéricos y el hecho de que esta recomendación funcione sólo con antihelmínticos de corta acción –como los benzimidazoles y el levamisol–, ha planteado que la estrategia de la rotación anual de medicamentos sea objeto de revisión, en particular, cuando se usan medicamentos de larga acción, como la moxidectina. El uso en estos intervalos de antihelmínticos de actividad persistente –como la moxidectina, que tiene un período de protección de hasta nueve semanas– lleva a la eliminación total o casi total de las poblaciones de nematodos susceptibles, con el consecuente desarrollo rápido de resistencia. En estos casos, la recomendación es cambiar de medicamento en la siguiente desparasitación de los animales.

En general, puede afirmarse que, de los diferentes factores que se mencionan como contribuyentes al desarrollo de la resistencia, el tamaño de la población en refugio es el que se considera determinante en las manifestaciones más o menos rápidas de ésta. Si la población refugio es mínima, la resistencia se desarrollará rápidamente y, por el contrario, si la población refugio es grande, la selección de resistencia será menor, por el efecto de la dilución mayor que producirán los parásitos susceptibles.

En síntesis:

- El manejo de la resistencia a los antihelmínticos sigue siendo difícil, porque se requiere más conocimiento al respecto; de todas maneras, en esta dirección se está progresando.
- Es inevitable el surgimiento de la resistencia antihelmíntica, ya que ésta es una consecuencia indefectible del uso de moléculas antihelmínticas.
- Es improbable la reversión de la resistencia a la susceptibilidad, y ésta podría emerger de nuevo cuando un medicamento de poca eficacia se reutilice.
- La frecuencia de los tratamientos no es necesariamente un factor de presión de selección, pues ésta se relaciona con la población en refugio.
- Las recomendaciones para el manejo de la resistencia no deben extrapolarse; deben estar dirigidas a condiciones locales, según las diferencias en las prácticas de manejo en las fincas, de los factores climáticos y de ecología de los parásitos.
- La aplicación de tratamientos para obtener pasturas 'limpias' y 'seguras', puede conducir a un desarrollo rápido de resistencia.
- La aplicación de tratamientos en animales con un nivel de inmunidad alto puede desencadenar un desarrollo de resistencia mayor que si se hace en animales no inmunes.

## ETAPAS DE LA RESISTENCIA

El desarrollo de la resistencia ocurre en tres fases o etapas y está ligado a la acumulación de alelos de resistencia, cuando los factores externos e internos coincidan y se inicie el proceso de selección de individuos resistentes. Estas etapas son:

### ***Fase de susceptibilidad individual***

En esta etapa, denominada también fase de establecimiento, los individuos que contienen el material genético que les confiere resistencia –alelos de resistencia– existen en la población de parásitos con una frecuencia baja. En esta fase la población es aún susceptible mayoritariamente a los compuestos químicos, pero posteriormente se van estableciendo los genes de resistencia, de tal manera que la población se compone de dos subpoblaciones: una pequeña, que es resistente a un antihelmíntico y una mayor, no resistente. El uso continuo de un fármaco va eliminando paulatinamente a los parásitos susceptibles, quedando sólo los resistentes.

Los cambios genéticos que operan en los parásitos ocurren al azar y están determinados por el tamaño de la población y su diversidad, por la tasa de mutación de los genes en cuestión y por el desempeño relativo de los individuos con mutación, comparados con aquéllos de características genéticas normales, es decir, sin mutación.

### ***Fase de desarrollo o de difusión de los parásitos resistentes***

Es la fase propiamente de desarrollo de resistencia y ocurre como respuesta al antihelmíntico que va eliminando de forma selectiva a los parásitos susceptibles, permitiendo la supervivencia y la reproducción de los individuos resistentes. La exposición continua de los parásitos a una droga o a un grupo de drogas con un mecanismo de acción similar, desarrolla esta fase intermedia, en que se eliminan los genotipos susceptibles y sobreviven al tratamiento los nematodos que poseen genotipos homocigotos (RR) y heterocigotos (RS). Es de destacar que los antihelmínticos son agentes poderosos de selección de alelos de resistencia, incrementando su frecuencia y dispersándolos en toda la población.

### ***Fase de resistencia clínica o de emergencia***

En esta fase se genera un incremento en la frecuencia de alelos de resistencia, a causa de la selección continua, situación que los capacita molecularmente para evadir los efectos de los antihelmínticos y que es heredada de generación en generación. Es la fase de la resistencia notoria, cuando empieza a ser absolutamente manifiesta la resistencia clínica.

Finalmente, por la permanente presión de selección, se desarrolla una cuarta fase, que resulta en una etapa de resistencia individual de homocigotos que

predominan en la población y hace que las próximas generaciones sean descendientes de la población minoritaria resistente, originando el desarrollo de resistencia a un determinado fármaco.

La tasa de desarrollo de resistencia dependerá de la cantidad de individuos homocigos y heterocigos que sobrevivan al tratamiento: se desarrollará más rápidamente cuando los individuos heterocigotos y homocigotos sobreviven al tratamiento, a causa de las subdosificaciones. Se ha creído que si las subdosificaciones incrementan dicha tasa, las sobredosificaciones producen el efecto contrario, pero esta suposición carece de soportes; por el contrario, las sobredosificaciones tienen desventajas en términos de residualidad, toxicidad y costos económicos, además de no mostrar ventajas de mayor eficacia y de disponibilidad sistémica.

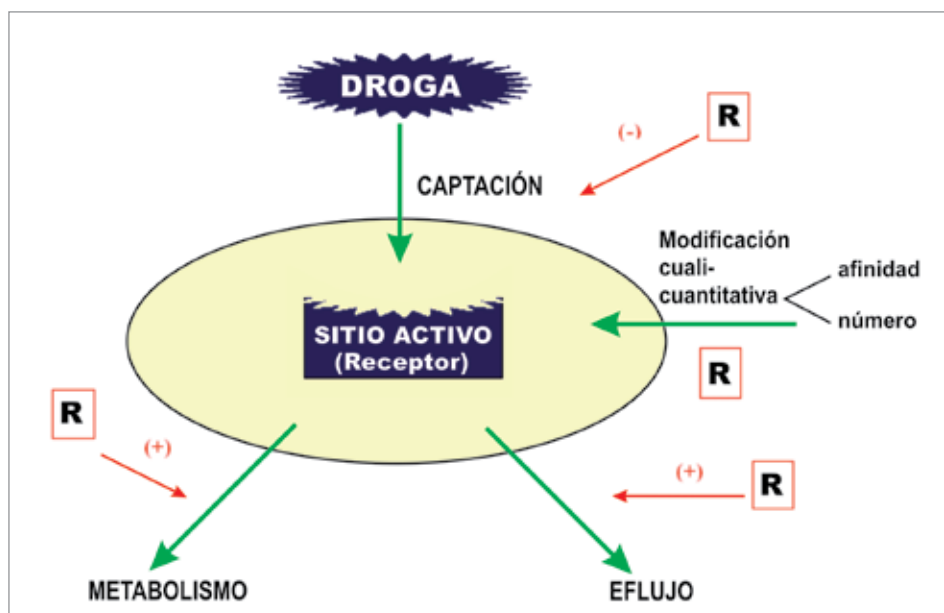
Entonces, la resistencia es, al parecer, un fenómeno ineludible, que resulta de la necesidad que tienen los productores de controlar los parásitos gastrointestinales y las enfermedades ocasionadas por éstos.

En el campo, antes de que se observen fallas de los tratamientos o su ausencia clínica como expresión de la resistencia, estará siempre precedida por el surgimiento de genotipos de resistencia, que es lo que ocurre comúnmente. Para contrarrestar estas fallas, los ganaderos recurren al incremento de las dosis con el fin de eliminar a la mayoría de parásitos, desencadenando incrementos mayores de los alelos de resistencia antes de que ésta sea notoria.

## **MECANISMOS DE RESISTENCIA**

Los cambios producidos a nivel genético para la selección de resistencia implican una serie de cambios que ocurren a nivel bioquímico y molecular, que se traducen en una disminución del efecto de un medicamento en la célula del parásito resistente (figura 3). Hasta ahora, la información sobre estos mecanismos de los benzimidazoles está más avanzada que la de los otros dos grupos de antihelmínticos.

Los benzimidazoles, las avermectinas y los agonistas nicotínicos son los antihelmínticos más empleados para el control de endoparásitos. La comprensión de los mecanismos bioquímicos involucrados en el origen y en la evolución de la resistencia antihelmíntica de las dos últimas familias de antihelmínticos ha requerido el empleo de técnicas electrofisiológicas, ya que el mecanismo de acción de estas drogas es a través de la apertura de canales iónicos localizados



**Figura 3.** Representación esquemática de los mecanismos celulares, cuyo incremento (+), reducción (-) o modificación de actividad resultan en el desarrollo de resistencia (R) a un fármaco determinado. Tomada de Mottier y Lanusse (2002).

en las membranas de nervios y músculos de los nematodos, pero no para el entendimiento de la acción de los benzimidazoles, pues es sabido que éstos ejercen su efecto farmacológico uniéndose a la proteína  $\beta$ -tubulina.

Los cambios a nivel bioquímico constituyen las bases farmacológicas a través de las que se genera el proceso de resistencia. Estos mecanismos de resistencia son los siguientes:

- Cambios estructurales y/o funcionales de las células, de tal manera que la droga no reconoce el sitio blanco y se torna, por lo tanto, inefectiva; o cambios en el metabolismo y/o eflujo celular para impedir la acción o acelerar la inactivación del fármaco, alterando la capacidad de acumulación intracelular de la droga.
- Alteración de sistemas enzimáticos para impedir la acción farmacológica de la droga.
- Disminución del número de receptores o de su afinidad para hacer menor la unión del fármaco al receptor, con lo que se disminuye el efecto farmacológico de un medicamento.

- Modificaciones en diferentes procesos celulares para contrarrestar el efecto farmacológico de la droga.

Los mecanismos implicados en la resistencia a los antihelmínticos se resumen en la tabla 9.

### ***Resistencia a imidazotiazoles y tetrahidropirimidinas***

El levamisol es el antihelmíntico colinérgico de mayor uso y actúa como un agonista en los receptores acetilcolino-nicotínicos en las uniones neuromusculares de los nematodos, causando parálisis espástica en los parásitos. Los nematodos resistentes al levamisol son igualmente resistentes a otros agonistas nicotínicos, como el morantel y el pirantel, porque estas drogas poseen el mismo mecanismo de acción en los helmintos, no obstante ser drogas diferentes desde el punto de vista químico.

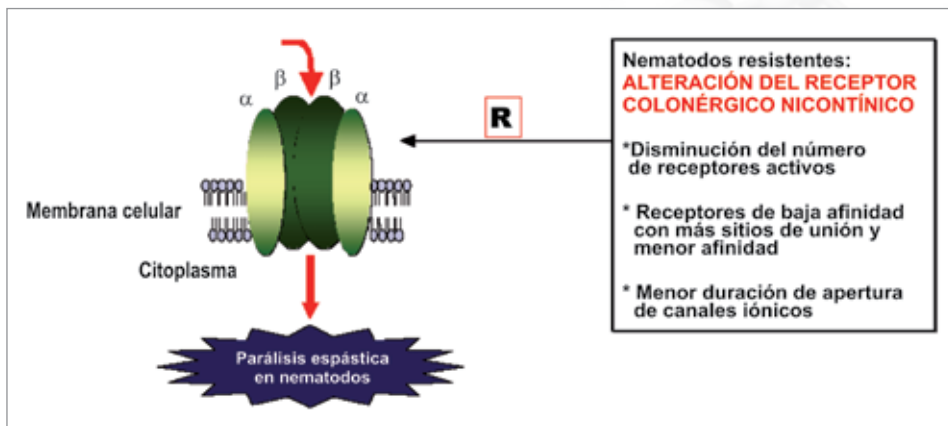
Comparativamente, es menor el conocimiento de los mecanismos de resistencia de los antihelmínticos nicotínicos, sin embargo, resultados de estudios sugieren que, como en los benzimidazoles, la resistencia está asociada a alteraciones en los sitios de acción –sitio blanco– (tabla 9). En un estudio realizado con *H. contortus*, se demostró que la unión del levamisol amino tritiado a los nAChR del parásito involucra a dos sitios y que la unión del levamisol es menos fuerte en los sitios de baja afinidad que en los parásitos susceptibles.

La resistencia a estos fármacos se produce por modificaciones en las propiedades de los receptores nicotínicos y por alteraciones en la unión de los receptores nicotínicos con las drogas en las células musculares de los nematodos (figura 4). Cepas de *H. contortus*, *C. elegans* y *Oesophagostomum dentatum* resistentes al levamisol tienen menos receptores nicotínicos, sugiriéndose que en estos casos la función normal de los receptores para el levamisol está modificada. En *C. elegans* se han identificado los genes *lev-1*, *unc-29* y *unc-38*, que codifican para subunidades proteicas que forman los canales iónicos nicotínicos, como responsables de la resistencia.

En relación con esto, se ha encontrado que los aislados resistentes de *O. dentatum* tienen menos canales receptores activos para el levamisol que los aislados susceptibles, sugiriéndose una desensibilización mayor en los canales receptores al levamisol en poblaciones resistentes. De estas observaciones se ha concluido que las diferencias fisiológicas observadas en poblaciones resistentes y susceptibles pueden ser explicadas por modificaciones

**Tabla 9.** Posibles mecanismos de resistencia a las principales familias de antihelmínticos.

Familia antihelmíntica	Mecanismo de resistencia
Benzimidazoles	Mutaciones en el isotipo 1 de la $\beta$ -tubulina: F200Y, F167Y Mutaciones en el isotipo 2 de la $\beta$ -tubulina: F200Y, F167Y Metabolismo alterado
Avermectinas y milbemicinas	Mutaciones en genes GluCl y/o GABA-R Sobreexpresión de glicoproteínas-P
Levamisol	Cambios en los receptores acetilcolino nicotínicos (nAChR)



**Figura 4.** Esquema del modelo de receptor nicotínico sobre el que actúan levamisol/morantel-pirantel, y posibles mecanismos involucrados en el desarrollo de resistencia. Tomado de Mottier y Lanusse (2002).

en la población heterogénea de receptores nAChR hacia una sensibilidad menor a la droga, aunque se desconocen los mecanismos bioquímicos que subyacen en la sensibilidad menor de los subtipos nAChR.

Entre los nematodos gastrointestinales es común observar resistencia al levamisol en *T. colubriformis* y en *O. circumcincta*, aunque es rara en *H. contortus*, creyéndose que el lento desarrollo de la resistencia en este parásito se deba al carácter autosómico completamente recesivo, poligénico y no ligado al sexo con que se hereda, mientras que en la herencia de la resistencia en *T. colubriformis* interviene un carácter recesivo monogénico ligado al sexo.

## ***Resistencia a las lactonas macrocíclicas***

El conocimiento del mecanismo de acción de las avermectinas y los agonistas nicotínicos, así como los procesos bioquímicos inherentes al desarrollo de la resistencia a estos compuestos, han implicado el uso de técnicas electrofisiológicas, siendo relevantes los avances que se han obtenido sobre estas sustancias químicas, aunque el cuadro todavía sea confuso.

Los primeros trabajos realizados para conocer el mecanismo de acción de la ivermectina enfocaron su atención en la habilidad de este fármaco para inducir incrementos en los niveles del neurotransmisor ácido gama-amino butírico (GABA), que inhibe la neurotransmisión en el sistema neuromuscular somático en los parásitos. Estudios posteriores han demostrado que, si bien la ivermectina tiene una actividad potente en los receptores GABA, los receptores más importantes en su mecanismo de acción, y de drogas relacionadas, son los receptores GluCl de los músculos somáticos, faríngeos y uterinos de los nematodos gastrointestinales.

De una manera más simple: existen en los nematodos dos canales que constituyen una familia de receptores ampliamente distribuida en estos parásitos, con funciones relacionadas con la locomoción, la reproducción y la alimentación y sobre los cuales actúan las avermectinas: el canal del cloro asociado al receptor glutamato (GluCl) y el canal del cloro asociado al neurotransmisor ácido gama-amino butírico (GABA/Cl). Las avermectinas actúan como agonistas con afinidad elevada sobre estos receptores, afectando todas estas funciones. La mayor parte de estos receptores se encuentra en la bomba faríngea y en las células musculares somáticas, y la unión a las avermectinas ocasiona una inhibición del impulso nervioso, dando como resultado la parálisis del parásito.

Los resultados de algunos estudios *in vivo* han demostrado que los parásitos que son resistentes a las avermectinas, lo son igualmente a las milbemicinas, en particular a la moxidectina, por ser drogas relacionadas químicamente que tienen un mecanismo de acción similar. Debido a que estas drogas son agonistas de alta afinidad sobre la unidad  $\alpha$  de los canales iónicos selectivos al cloro de los nematodos (receptores GluCl), la resistencia ocurre por modificaciones en las subunidades del receptor GluCl y/o por la mayor expresión de una proteína de membrana, la glicoproteína P (Gp-P), impidiendo que la molécula antiparasitaria alcance las concentraciones activas en los receptores del glutamato de los parásitos resistentes (figura 5).



**Figura 5.** Representación esquemática de las posibles alteraciones genéticas y mecanismos involucrados en el desarrollo de resistencia a fármacos endectocidas. GpP: glicoproteína P. Tomada de Mottier y Lanusse (2002).

Si bien, como se ha dicho, las avermectinas actúan sobre las funciones de locomoción, reproducción y alimentación, es probable que estas acciones varíen entre las especies de parásitos y, por lo tanto, también lo hagan los mecanismos de resistencia, basándose esto en estudios en los que se ha revelado la existencia de diferentes fenotipos en aislamientos de *H. contortus* resistentes a las avermectinas.

De otro lado, existen estudios cuyos resultados han revelado la existencia de cuatro genes con al menos 40-50 diferentes alelos de Gp-P en *H. contortus*, informándose que la estructura y/o la transcripción del gen de la Gp-P están alterados en los nematodos resistentes a endectocidas, como las avermectinas y milbemicinas, indicándose también las cantidades mayores de RNAm de la Gp-P que se ha encontrado en *H. contortus* resistentes a ivermectina, en comparación con los susceptibles, para lo cual los genes PGP-A y A28 en *H. contortus* son los que codifican para la Gp-P.

En cuanto a la participación genética en el desarrollo de la resistencia a estos fármacos, se ha descubierto que en el nematodo de vida libre *C. elegans* los genes

*avr-15*, *avr-14* y *glc-1* codifican para tres subunidades  $\alpha$  de los receptores GluCl del músculo faríngeo y algunas neuronas extrafaríngeas, y que los genes *unc-7* y *unc-9* codifican neuronas de enlace entre las neuronas extrafaríngeas y las células musculares faríngeas. La ocurrencia de mutaciones simultáneas en los genes *avr-15*, *avr-14* y *glc-1* se traducirá en resistencia a la ivermectina en *C. elegans*, mientras que las mutaciones en los genes *unc-7* y *unc-9* llevarán a que la resistencia se limite sólo a las neuronas con receptores GluCl y no al músculo faríngeo.

Se ha reportado también que la resistencia a las ivermectinas está relacionada con la disminución de la permeabilidad de la cutícula de los nematodos a estos fármacos, siendo la expresión de los genes *Dyf* la responsable de la captación, de tal manera que la mutación de algunos de ellos, como el *osm-1*, producen en los endoparásitos una permeabilidad menor a la droga, confiriéndoles, por lo tanto, resistencia a las ivermectinas.

### ***Resistencia a los benzimidazoles***

Los benzimidazoles son los fármacos de los que se posee mayor información relacionada con sus mecanismos de resistencia. Se estableció así que su blanco de acción es la proteína  $\beta$ -tubulina. Fenotípicamente, los parásitos resistentes se caracterizan por haber perdido los sitios de afinidad alta a estas drogas en las subunidades proteicas de los microtúbulos. Los benzimidazoles actúan inhibiendo la polimerización de la tubulina, necesaria para la formación de microtúbulos, y la resistencia se presenta cuando los genes que codifican para  $\beta$ -tubulina sufren mutaciones, produciendo disminución en la afinidad de los receptores de la  $\beta$ -tubulina por los benzimidazoles e impidiendo, por lo tanto, su unión con estos fármacos. Está demostrado que la administración de estos compuestos químicos en dosis terapéuticas a animales infectados con nematodos hace que los microtúbulos desaparezcan de las células intestinales de los parásitos benzimidazol-susceptibles pero no de los benzimidazol-resistentes.

Estudios realizados con *H. contortus* han demostrado la existencia de dos subtipos de  $\beta$ -tubulina: uno de alta afinidad y otro de baja afinidad, señalándose que los nematodos, lo mismo que los hongos y ciertos protozoos poseen receptores de afinidad alta que se localizan en el grupo N-terminal de la  $\beta$ -tubulina. Algunos genes que codifican para la  $\beta$ -tubulina sufren mutaciones, originando la pérdida del receptor de afinidad alta, lo que conduce a la resistencia. En estos casos se observa una disminución en la unión del benzimidazol a la  $\beta$ -tubulina, siendo esta situación común en *H. contortus*, *T. colubriformis* y *O. circumcincta*.

De otro lado, se ha demostrado que la  $\beta$ -tubulina está conformada por dos isotipos: isotipo 1 e isotipo 2, y que la resistencia a los benzimidazoles se desarrolla cuando las mutaciones ocurren en el isotipo 1. Se observó en *H. contortus* que las modificaciones en este isotipo llevaron a modificaciones de aminoácidos entre parásitos susceptibles y parásitos resistentes a benzimidazoles en las siguientes posiciones: en la posición 76, la fenilalanina de los susceptibles fue reemplazada por valina en los resistentes; en la posición 200, la fenilalanina de los susceptibles fue reemplazada por tirosina en los resistentes y en la posición 368, la valina de los susceptibles se reemplazó por isoleucina en los resistentes.

Recientemente, la asociación de resistencia a los benzimidazoles con la selección de parásitos resistentes caracterizada por la sustitución de fenilalanina por tirosina en la posición 200 del gen del isotipo 1 de la  $\beta$ -tubulina, fue demostrada en otros helmintos de rumiantes, como *Teladorsagia circumcincta*, observándose correlación total entre la resistencia a los benzimidazoles y los cambios genéticos. Estas evidencias son las que han permitido señalar que el poliformismo Phe-Tyr es la mutación más importante que confiere resistencia a los benzimidazoles. Así mismo, las evidencias experimentales obtenidas de estudios con *H. contortus* y otros nematodos tricostrongílidos muestran con claridad que la resistencia inicial a los benzimidazoles está ligada a una mutación en el gen del isotipo 1 de la  $\beta$ -tubulina y que más adelante la selección resulta en la pérdida completa de los alelos del isotipo 2 de la población.

Estudios más recientes han demostrado que los mismos dos polimorfismos ocurren también en el isotipo 2 de la  $\beta$ -tubulina en *H. contortus*, y ellos pueden conferir también resistencia. La ocurrencia de cambios en la posición 200 de ambos isotipos origina la pérdida del receptor de afinidad alta en *H. contortus* resistentes a benzimidazoles.

En relación con el fasciolicida triclabendazol –típico benzimidazol de espectro reducido–, no se conoce cuál es el mecanismo de la resistencia, señalándose que habrá que adelantar más investigaciones para tener una comprensión cabal de él. Se ha comprobado la existencia de tirosina en la posición 200 en la  $\beta$ -tubulina de parásitos tanto susceptibles como resistentes.

Las principales acciones terapéuticas de los antihelmínticos modernos ocurren en tres áreas bioquímico-fisiológicas constituidas por proteínas, siendo los canales iónicos, las enzimas, las proteínas estructurales y las moléculas de transporte los principales sitios de acción de estas sustancias (tabla 10).

**Tabla 10.** Sitios de acción de los antihelmínticos comunes.

Canales iónicos	Microtúbulos	Bioenergéticos	Desconocido
Tetrahidropirimidinas (pirantel, morantel)	Benzimidazoles (tiabendazol, albendazol, mebendazol, netobimin)	Salicilanilidas (closantel)	Praziquantel
Imidazotiazoles (levamisol)		Sulfonamidas clorinadas (clorsulon)	Triclabendazol
Lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina)			
Piperazina			

Fuente: Kölher, 2001

## REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA

Por reversión se entiende el retorno de una población de nematodos resistente a estados de susceptibilidad, siempre y cuando deje de usarse la droga que seleccionó para resistencia. Técnicamente, la reversión se conoce como el descenso o la disminución en una población de nematodos gastrointestinales de la frecuencia de individuos resistentes, luego de que es retirado el antihelmíntico que ha seleccionado para resistencia. La posibilidad de lograr que este fenómeno ocurra en poblaciones de parásitos resistentes, ha conducido a que se realicen estudios en esa dirección, explorando formas que permitan el regreso a estados de susceptibilidad antihelmíntica, basadas en el retiro temporal de los compuestos que han seleccionado inicialmente para resistencia.

La información generada al respecto no permite hacer afirmaciones categóricas, pues los resultados arrojados hasta ahora por varios estudios son bastante contradictorios o, por lo menos, no coincidentes.

En algunos trabajos llevados a cabo en 1978, en los que se usaron huevos de *H. contortus* y de *T. colubriformis* resistentes a benzimidazoles, se observó disminución de la resistencia en ausencia de tratamientos con benzimidazoles. Así mismo, se encontraron resultados similares cuando se usaron cepas de *T. colubriformis* resistentes a benzimidazoles; las cepas revirtieron a susceptibilidad al tiabendazol luego de usar levamisol durante seis años, aunque en este período se observó también el desarrollo de resistencia al levamisol.

Si bien ha habido evidencias de que la resistencia puede revertirse temporalmente a estados de susceptibilidad antihelmíntica, también se ha observado que cuando se reintroduce el antihelmíntico que había seleccionado cepas de helmintos resistentes, la resistencia vuelve a presentarse rápidamente. Se cree que el fenómeno puede estar influenciado por la patogenicidad y la fecundidad de la especie resistente prevalente, como en el caso de *H. contortus*, lo que sugiere que, cuando se opta por esta situación, debe hacerse bajo un monitoreo parasitológico estricto y cuidadoso, con rotaciones quimioprofilácticas lentas y prevalencia de cepas conocidas y de menor potencial biótico, como sería el caso de *Teladorsagia spp.*

En la misma dirección, resultados de un experimento llevado a cabo durante 16 años con ovinos demostraron que cepas de *Ostertagia spp.* y de *Trichostrongylus spp.* resistentes a benzimidazoles luego de nueve años de exposición a estas drogas, revirtieron a susceptibilidad a estos fármacos durante los dos años en que fue suministrado levamisol en ausencia de oxfendazol. El estudio reveló también que al reintroducirse un benzimidazol, luego de dos años de haber sido retirado, el nivel de resistencia a éste retornó muy rápido a niveles más elevados que los reportados anteriormente.

Se cree que la ocurrencia o no de reversión a susceptibilidad depende del nivel de genes resistentes en la población de parásitos. Si la población está compuesta predominantemente por parásitos resistentes homocigotos, es posible que la reversión no ocurra o que se desarrolle a niveles bajos; pero si el retiro de la droga que seleccionaba para resistencia se hace en una población de nematodos constituida principalmente por heterocigotos, cierto grado de reversión a la susceptibilidad se presentará. Sin embargo, la reintroducción de la droga que seleccionaba resistencia resultará en un rápido retorno a estados de resistencia, como se ha demostrado en diferentes estudios.

Se conocen casos de restauración de la eficacia antihelmíntica en predios donde se han establecido poblaciones de nematodos resistentes a un antihelmíntico en ovinos, pero a través de la reintroducción en esos predios de larvas de nematodos susceptibles.

## IMPPLICACIONES DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

Aunque el descubrimiento de antihelmínticos eficaces cada diez años, a partir de la aparición de la fenotiacina en los cincuentas, seguida por los benzimidazoles en la década de los sesentas, los imidiotiazoles en los setentas y la avermectina-milbemicina en los ochentas, condujeron a que las recomendaciones

para el control de los parásitos se basara en el uso exclusivo de estas sustancias químicas potentes, el surgimiento de la resistencia a estos antiparasitarios pone de presente la necesidad de revisar este esquema de control parasitario, para que se busquen otras estrategias de control, pues resultó insostenible y cortoplacista, no obstante lo exitosos que fueron. A esto se le agrega que en el período post-ivermetina no se vislumbran investigaciones para desarrollar nuevos antihelmínticos, a excepción del octadepsipéptido cíclico y/o de la paraherquamida, haciéndolos insuficientes para sostener el paradigma del control de parásitos basado en los compuestos químicos.

En este contexto, es necesario cambiar los enfoques actuales de control de parásitos, dirigiendo los esfuerzos para:

- Preservar la eficacia de las pocas drogas que aún mantienen niveles altos de eficacia, en especial si se considera que en los últimos años el descubrimiento y desarrollo de nuevos antihelmínticos es bastante reducido y que no se vislumbran muchos candidatos en el horizonte. Esto conlleva aceptar que los antihelmínticos son un recurso limitado y agotable que debe ser preservado.
- Continuar con el desarrollo de pruebas moleculares capaces de detectar la resistencia cuando la frecuencia de alelos esté todavía baja, pues si se logra detectar este problema antes de que se evidencie clínicamente, es posible implementar cambios en las estrategias de control para preservar la eficacia de las drogas.
- Desarrollar pruebas que permitan una comprensión mayor de los mecanismos de la resistencia.
- Desarrollar estrategias no químicas de control que disminuyan la necesidad de tratamientos y usar de manera más inteligente a los antihelmínticos eficaces. Esta es la alternativa más sostenible en el horizonte actual de la resistencia antihelmíntica.

De otro lado, cuando la resistencia hace presencia en los sistemas de producción ganaderos, ésta tiene, además, unas implicaciones epidemiológicas —no del todo claras— y económicas que el fenómeno trae consigo, en particular en lo referente a la patogenicidad y a la supervivencia de las cepas resistentes en las praderas. Se han desarrollado estudios con resultados que demuestran que una cepa de *H. contortus* resistente a benzimidazoles tuvo incrementos en

la tasa de establecimiento, la producción de huevos, la patogenicidad y la supervivencia de larvas en las praderas. Sin embargo, otro estudio reveló resultados opuestos, al no encontrar diferencias en la patogenicidad y la supervivencia en cepas de *H. contortus* susceptibles que desarrollaron resistencia a benzimidazoles, salicilanilidas e ivermectina en dos grupos de corderos.

Por su parte, la implicación económica de la resistencia radica en los costos económicos altos que tienen, por un lado, la investigación y el descubrimiento de nuevos fármacos en los laboratorios farmacéuticos y, por otro, los costos económicos que tienen que asumir los productores por el uso de compuestos químicos para el control de los parásitos en los sistemas de producción ganaderos.

## CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS

Existen muchas dificultades en el control de la resistencia a los antihelmínticos y/o para su detección en los predios en su fase inicial, por las limitaciones en la sensibilidad de las técnicas *in vivo* que se emplean, no obstante los progresos obtenidos en la caracterización molecular y genética de las poblaciones resistentes a estos medicamentos. No existen, por lo tanto, soluciones concretas conducentes a detener su desarrollo. Sin embargo, es probable que si se consideran otras herramientas, distintas a las empleadas tradicionalmente para el control de parásitos, la resistencia puede ser manejada.

El reto es cómo frenar el desarrollo de la resistencia. La clave posiblemente está en la necesidad de conservar el estado de susceptibilidad antihelmíntica en los predios, para lo que será necesario que los productores admitan cierta disminución en la producción ocasionada por parasitismo gastrointestinal, en aras de este objetivo. Algunos experimentos realizados en Australia han demostrado que al reducirse el número de tratamientos, basándose en el conocimiento de la epidemiología de los parásitos, ha disminuido la presión de selección y, de paso, se han conservado alelos susceptibles en nematodos sobrevivientes. Señalan que los alelos susceptibles se pueden conservar también retirando los tratamientos a una porción del rebaño o identificando y tratando sólo a los animales más susceptibles.

¿Es realmente fácil mantener la susceptibilidad antihelmíntica en una buena proporción de parásitos en los predios, empleando sustancias antihelmínticas para su control? La respuesta es que no es fácil, que es difícil el control de la resistencia ya que los antihelmínticos no se integran a medidas no químicas de control.

El control de la resistencia va aparejado con los métodos que se diseñen para el control de los nematodos gastrointestinales, diseños que deben implementarse para mantener la población de parásitos en niveles bajos y que no afecten la producción de los rumiantes, para lo cual el mantenimiento de población en refugio debe ser el eje central de las recomendaciones. Cualesquiera que sean las opciones, éstas deben estar en consonancia con los aspectos epidemiológicos de las poblaciones parasitarias en los predios.

A continuación se presentan las distintas estrategias, principalmente de manejo, que deben tenerse en cuenta para frenar el desarrollo de la resistencia:

- Consideraciones epidemiológicas.
- Consideraciones farmacológicas.
- Disminución de la frecuencia de tratamientos.
- Pastoreo mixto y/o alterno bovino-ovino.
- Uso simultáneo de antihelmínticos con diferentes modos de acción.
- Uso de animales resistentes.
- Uso de vacunas contra los nematodos de mayor importancia veterinaria.
- Rotaciones prolongadas de los antihelmínticos.
- Dilución de las poblaciones de parásitos resistentes.
- Control biológico.
- Uso del sistema Famacha.
- Mejora nutricional
- Suplemento de elementos menores en la dieta.

### *Consideraciones epidemiológicas*

El conocimiento de la epidemiología de los parásitos es fundamental. Con base en éste se deben diseñar las estrategias de control, en particular, aquéllas que impliquen el uso de sustancias químicas. El éxito del diseño y de la implementación de controles sobre la base de la epidemiología de los parásitos dependerá de qué tanto se incorpore una quimioprofilaxis mínima y del uso de drogas con eficacia máxima, para que se logre disminuir los genes recesivos de resistencia. Infortunadamente, el conocimiento epidemiológico de estos parásitos es bastante escaso, o inexistente, en la mayor parte de los países tropicales, como Colombia, por lo que en estas regiones esta estrategia es difícil.

## Consideraciones farmacológicas

La mayor parte de los medicamentos antihelmínticos tiene en los organismos animales una persistencia muy baja, situación que conlleva reinfecciones rápidas luego de las desparasitaciones, lo que puede llevar a pensar en la ineficacia de los tratamientos. Otras circunstancias que pueden influir son las diferencias individuales e interespecíficas en la farmacocinética, como ocurre entre las cabras y las ovejas. Así mismo, los parásitos gastrointestinales también influyen en la distribución de los antihelmínticos. Por ejemplo, en infecciones con *O. circumcincta*, la biodisponibilidad de los benzimidazoles es bastante reducida, aunque las causas sean desconocidas. Sin embargo, no ocurre lo mismo en infecciones con *N. battus* respecto a fármacos como netobimin, albendazol, levamisol o ivermectina, como tampoco se observa el fenómeno en infecciones con *F. hepatica* ante rafoxanida.

Se propone la estrategia de incrementar la biodisponibilidad del fármaco para mejorar los tratamientos con antihelmínticos, dirigida a incrementar las concentraciones de los medicamentos en el tiempo suficiente para que alcancen los sitios donde se localizan los parásitos y entren en contacto con ellos. La ventaja de la estrategia consiste en que se reduce el número de parásitos portadores de genes de resistencia para sobrevivir al tratamiento, pudiéndose aplicar esta opción a los mecanismos de resistencia que se desarrollan en función de la concentración del fármaco.

Existen diferentes formas para incrementar la biodisponibilidad de las drogas, como: i) disminución de la salida del antihelmíntico del parásito mediante interferencia farmacológica, ii) interferencia en el metabolismo y la eliminación y iii) manejo de la alimentación, como tipo y cantidad de dieta, ayuno pre y postratamiento, entre otros. Diferentes estudios han demostrado que se puede retardar el paso del medicamento por el tracto gastrointestinal y prolongar la biodisponibilidad del antihelmíntico si se disminuye el consumo de alimento previo al tratamiento en ovinos o mediante ayunos ante y postratamiento en ovinos y bovinos, lo que redundaría en una duración mayor de la absorción gastrointestinal de la droga.

De la misma manera, existen reportes en los que se informa que con la disminución del consumo de alimentos a la mitad durante las 36 horas antes y después del tratamiento con oxfendazol, la biodisponibilidad sistémica de la droga estuvo correlacionada con incrementos en la eficacia de la droga, así: 33% contra *H. contortus* y 60% contra *T. colubriformis*, resistentes a benzimidazoles.

La conclusión es que los ayunos entre las 12 y 24 horas previas al tratamiento ocasionan modificaciones en la farmacocinética de los antihelmínticos, incrementándose su biodisponibilidad sistémica.

### *Disminución de la frecuencia de los tratamientos*

Es una de las estrategias que siempre se señalan para ser tenida en cuenta en programas de control de la resistencia, porque permite reducir la presión de selección para resistencia. Desde hace algún tiempo se considera que las frecuencias altas de los tratamientos se asocian con el desarrollo de resistencia, más cuando el antihelmíntico usado es el mismo y durante muchos años. Esta práctica se presenta comúnmente en la última década, tal vez por la aparición de medicamentos genéricos, cuyos costos bajos han impulsado a los productores a realizar tratamientos masivos e intensivos a los animales, generando una mayor presión de selección sobre las poblaciones de parásitos.

La recomendación es reducir la presión de selección disminuyendo la frecuencia de los tratamientos, sin perder de vista que el beneficio que se puede obtener empleando esta estrategia tiene relación con el tamaño de la población en refugio y si los compuestos usados son de acción prolongada o de corta acción.

### *Pastoreo mixto y/o alterno bovino-ovino*

Esta estrategia, destinada a disminuir el nivel de infección en las praderas y, por lo tanto, a reducir la frecuencia de tratamientos en estas dos especies, es conocida también como 'rotaciones limpiadoras' de los potreros y tiene como fundamento la especificidad de algunos géneros de parásitos sobre algunos hospedadores, de tal manera que el pastoreo previo de una de las especies de rumiantes descontamina, o 'limpia', la pradera destinada a la especie que pastoreará posteriormente. En Colombia, esta estrategia no tiene aplicabilidad en los sistemas de producción ganaderos, ya que la industria ovina no está suficientemente desarrollada.

Existen estudios que han demostrado que el pastoreo conjunto bovino-ovino es más benéfico, en términos de descontaminación de praderas, que el pastoreo simple de cada especie, debido a la disminución de la contaminación/infección cruzada entre las especies, resultante de la remoción de larvas del suelo por parte de los animales que no son afectados, lo que redonda en una reducción de la contaminación de las praderas.

### ***Uso simultáneo de antihelmínticos con diferentes modos de acción***

Esta estrategia, si se usan los insumos mínimamente, constituye la herramienta más práctica y fácil de llevar a cabo por parte de los productores, siempre y cuando cuenten con una asesoría profesional idónea. Puede ser bastante exitosa en la prevención de la resistencia. Sin embargo, esta práctica requiere al inicio del programa el uso de antihelmínticos de eficacia comprobada. Si los parásitos tienen algún tipo de resistencia a uno de los compuestos combinados, la resistencia se intensificará y se iniciará la selección para resistencia por el otro antihelmíntico.

### ***Uso de animales resistentes***

Hay evidencias sobre la habilidad que tienen algunos animales para resistir naturalmente al establecimiento y desarrollo de los parásitos, a través de la respuesta inmune. En consecuencia, el objetivo de esta estrategia es que, mediante un proceso de selección, se reduzca cada vez más en la población la presencia de animales muy parasitados, lográndose de este modo un efecto epidemiológico importante. En este sentido ha habido avances desde 1932, año en que se comunicó la existencia de resistencia en ovinos a las infecciones por parásitos o a sus efectos, y en 1958, cuando se informa sobre la variación genética existente en estos rumiantes frente a los desafíos de los parásitos.

Si bien se sabe que algunas razas son más resistentes que otras, está bien establecido que existe más variación entre individuos de una misma raza que entre razas, lo que permite hacer selecciones de individuos y cruces de animales genéticamente resistentes a los nematodos gastrointestinales de determinada raza, dada la suficiente variación existente al interior de las razas. En este contexto, se conocen muchos reportes sobre las variaciones existentes entre razas de bovinos y ovinos en cuanto a la resistencia a parásitos como *H. contortus*, *Ostertagia (Teladorsagia) spp.* y *Tichostrongylus spp.*

La resistencia de los animales a los parásitos puede medirse por métodos directos e indirectos. La base de los primeros es la genética molecular, con la que se determinan los alelos o genes involucrados en el proceso de la resistencia; actualmente, la mayor parte de los estudios están enfocados en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Con los métodos indirectos se mide la expresión fenotípica de la resistencia, como es el caso del recuento de parásitos adultos en un animal al que se le haya realizado



**Foto 13.** Ciertos animales de una misma raza pueden ser más resistentes a los parásitos que otros.

necropsia –de poco uso por lo impráctico– o de la medición indirecta de la carga parasitaria, a través del recuento de hpg, que es el método más utilizado. Otras variables que se miden son el hematocrito, la titulación de anticuerpos para observar la respuesta inmune, los recuentos de eosinófilos y el recuento de algunos antígenos linfocitarios en ovinos. En esta misma dirección se desarrollan estudios para identificar los genes de resistencia tanto en bovinos como en ovinos.

Es importante tener en cuenta que en una población de animales, los tipos o mecanismos de respuesta pueden ser de resiliencia, tolerancia o resistencia. En otros apartes se ha dicho que la resistencia es la capacidad de los animales para disminuir el número de parásitos que puedan establecerse en su interior; es decir, se parasitan menos, mientras que la resiliencia habilita a los animales para mantener niveles de producción aceptables, no obstante la infección parasitaria que albergan. Y por tolerancia se entiende la capacidad de los animales para mantener niveles productivos aceptables sin que intervenga el sistema inmunitario. En términos de heredabilidad, la literatura es consistente al reportar que al medir el hpg ésta varía entre 0,2 y 0,3.

Aunque no se sabe cuáles son los mecanismos íntimos a través de los que se expresa la resistencia, se han observado las siguientes manifestaciones de resistencia en ovinos:

- Disminución en el establecimiento y desarrollo de larvas L3 a larvas L4.
- Disminución del desarrollo de larvas L4 a estados adultos.
- Eliminación de una buena proporción de los parásitos adultos que se han establecido.
- Disminución de la oviposición de las hembras.

No necesariamente los que exhiban o desplieguen mejor esta característica son los potencialmente más productivos. El uso de animales resistentes es una estrategia que puede ser aplicada por los ganaderos, con un costo bajo.

#### ***Uso de vacunas contra los nematodos de mayor importancia veterinaria***

Junto con el control biológico, son las estrategias más deseables para ser incorporadas en esquemas de control integrado de parásitos. No obstante los esfuerzos realizados para la producción de vacunas contra nematodos gastro-intestinales de rumiantes, los resultados en este campo no son nada satisfactorios, debido a la no viabilidad de la producción de vacunas en forma comercial y al desuso en que han caído las vacunas irradiadas. A excepción de la vacuna contra *D. viviparus*, primera vacuna desarrollada comercialmente, en la actualidad no hay vacunas disponibles en el mercado. En este campo, son pocos los progresos existentes para bovinos.

En cuanto a las razones que permiten explicar la situación actual sobre la ausencia de vacunas, una de ellas es que se requiere mucha información sobre los parásitos y sus hospedadores. Es posible que las razones más importantes radiquen, hasta ahora, en la poca importancia que reviste la resistencia antihelmíntica en el ganado bovino, dada su poca extensión, y que los nematodos de bovinos no son un problema mayor, como sí lo son para los ovinos, en particular, *Haemonchus*.

#### ***Rotaciones prolongadas de los antihelmínticos***

La estrategia de usar un solo antihelmíntico hasta que su ineficacia sea evidente parece validar esta práctica, en tanto que la rotación rápida de las drogas no es aconsejable por la selección para resistencia que ocurrirá con los fármacos usa-

dos en ella. En la actualidad, se recomiendan rotaciones anuales, sin embargo, este tema no está resuelto del todo, dada la ausencia de estudios que demuestren el valor de esta recomendación en el campo. Inquietudes acerca de si la rotación anual de drogas es la opción mejor para el control de la resistencia o si la combinación de medicamentos puede retardar su inicio o si el mecanismo de heredabilidad de la resistencia afecta su surgimiento, no están aún resueltas en la actualidad.

### ***Dilución de las poblaciones de parásitos resistentes***

Consiste en introducir cepas de parásitos susceptibles en praderas mediante animales infectados artificialmente con cepas susceptibles para diluir las cepas resistentes. Este concepto fue introducido por un investigador en Suráfrica, quien demostró que poblaciones de parásitos resistentes en las pasturas pueden ser eliminadas con la introducción de ovejas con cepas de parásitos susceptibles a antihelmínticos. El método fue mejorado más tarde, removiendo de los ovinos los parásitos resistentes a benzimidazoles y tratándolos con una combinación de antihelmínticos a los que los parásitos no habían desarrollado aún resistencia. Posteriormente, los animales se reinfectaron con cepas de parásitos susceptibles, de manera que los huevos excretados eclosionaran en larvas que diluirían las larvas resistentes en las pasturas.

### ***Control biológico***

Como se mencionó más arriba, el control biológico, junto con el desarrollo de vacunas, reviste una importancia particular en el tema de la resistencia. El control biológico de los nematodos parasíticos está dirigido al control de los estados de vida libre de los parásitos, en contraste con los métodos quimioterapéuticos que atacan la fase parasítica en los hospedadores. Se considera la herramienta más promisoría con que se puede contar en un futuro no muy lejano; por esta razón, la actividad científica en la última década se ha intensificado en países como Dinamarca, Australia y México y Argentina, en Suramérica, entre otros, dirigida a explorar el potencial atrapador de nematodos que tienen ciertos microhongos, como *Duddingtonia flagrans*, un hongo que ha demostrado tener habilidad para reducir las larvas de parásitos tricostrongílidos presentes en heces de animales.

Por la importancia y pertinencia que tiene hoy el tema del control biológico como herramienta para el control de los parásitos gastrointestinales en rumiantes, el siguiente capítulo muestra el estado de su desarrollo actual.



Foto 14. Estructuras de atrapamiento (dedos adhesivos) de hongos nematófagos.

### *Uso del sistema Famacha*

Es una herramienta de ayuda en el control de nematodos de los ovinos, en la perspectiva de efectuar tratamientos selectivos en procura de mantener subpoblaciones en refugio que ayuden a controlar la resistencia en estos rumiantes, pues es conocido ampliamente que el problema de la resistencia antihelmíntica en esta especie es crítico. El sistema Famacha se ha aplicado en países en donde la resistencia en parásitos de ovinos es un problema serio, como en Brasil y Argentina, en Suramérica, y está dirigido en particular al control de *H. contortus* en ovejas.

En esencia, el sistema consiste en identificar el grado de anemia asociada con la presencia de *H. contortus*, identificando el color de la conjuntiva ocular como signo clínico de anemia en animales individuales. Se fundamenta en que un pequeño porcentaje de animales de un rebaño presenta cargas parasitarias mayores de forma desproporcionada, mientras que una porción relativamente grande presenta niveles bajos de infección parasitaria o no tiene parásitos. Basados en estas evidencias, se han realizado experimentos en los que, tratando sólo a animales que no tengan capacidad para soportar grandes cargas parasitarias, se favorece la proporción de endoparásitos que no son expuestos a los fármacos. Así mismo, los resultados de modelos matemáticos indican que si tan sólo una porción pequeña de animales es tratada con antihelmínticos, la resistencia se retar-

dará, ya que una proporción de la población de parásitos escaparía de la selección para resistencia antihelmíntica y ésta sería la encargada de 'diluir' las poblaciones de nematodos resistentes. Sin embargo, se reconoce una desventaja y es que, no en todo animal en que se presente cierto grado de anemia ésta es ocasionada necesariamente por *H. contortus*. La técnica se originó en Sudáfrica y se validó en Brasil, Paraguay y Uruguay, países en donde la industria ovina está desarrollada.

### ***Mejora nutricional***

Está demostrado que las suplementaciones ricas en proteína tienen un efecto benéfico en los animales afectados por parasitismo gastrointestinal, reflejado en mejores respuestas inmunes frente a los parásitos, lo que redundaría en una posibilidad de establecimiento de los parásitos menor, producción más baja de sus huevos e incremento del número de eosinófilos, entre otros.

El uso de taninos condensados en la dieta de rumiantes ha resultado en beneficios, no sólo de tipo productivo –ganancia de peso–, sino también sanitario, a causa probablemente de una disponibilidad proteica mayor, en especial cuando se suministra en un rango de concentración de 2% a 4% de la materia seca. Algunas leguminosas, como *Lotus corniculatus* y *L. pedunculatus*, han demostrado sus bondades en la mejora de la digestión y la asimilación de proteína y en la respuesta inmune asociada. Una de las ventajas de la incorporación de estas especies en la dieta de los rumiantes es la producción de alimentos de mejor calidad –con menos residuos químicos–, lo que está en consonancia con los consumidores cada vez más exigentes que presionan por la producción de alimentos inocuos y de calidad mayor.

### ***Suplemento de elementos menores en la dieta***

Otra herramienta que ha tomado vigencia en la investigación sobre métodos de control parasitario es el uso de algunos minerales en la dieta, como cobre, molibdeno y fósforo, con efectos sobre la población de parásitos internos en el animal hospedador. Se ha demostrado, por ejemplo, que el suministro de cobre en la dieta de corderos disminuye la tasa de establecimiento de *H. contortus* y *Teladorsagia circumcincta* en 96% y 56%, respectivamente.

Entre los minerales actualmente en investigación, el cobre ha demostrado tener propiedades antiparasitarias; no hay que olvidar que el sulfato de cobre fue antiguamente un constituyente tradicional en las preparaciones antihelmínticas, pero fue abandonado cuando aparecieron los modernos y potentes antihelmínticos.

Nueva Zelanda es uno de los países en donde se ha retomado el interés por este metal. En un experimento realizado en 1990, se suministraron a los animales cápsulas con partículas de óxido de cobre, en dosis de 5 mg, que se liberaban y se alojaban en los pliegues del abomaso, dando como resultado reducciones de la carga parasitaria de *O. ostertagi* y *H. contortus* en 96% y 56%, respectivamente. Las partículas no tuvieron efecto sobre *T. colubriformis*, que es una especie intestinal. Los efectos de una cápsula de 2,5 mg persistieron hasta por tres meses.

## DIAGNÓSTICO DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS

La presencia o sospecha de resistencia en el campo empieza a notarse cuando se observan fallas de los antihelmínticos para producir respuesta clínica en los animales luego de los tratamientos, es decir, cuando los compuestos químicos son incapaces de eliminar los parásitos a las dosis terapéuticas recomendadas. Y lo que comúnmente ocurre es que, antes de que la falla de los antihelmínticos por resistencia sea detectada, la selección ya ha ocurrido en los predios.

Sin embargo, no siempre las respuestas terapéuticas bajas son consecuencia de la presencia de resistencia de los nematodos a un determinado fármaco. Es necesario tener en cuenta que la reducción en la eficacia de un medicamento por causa de resistencia es diferente a la reducción por variaciones intrínsecas en la eficacia de los medicamentos, como sucede en las siguientes situaciones:

- Estadios diferentes en el ciclo de vida de los parásitos.
- Diferencias relacionadas con el sexo de los parásitos.
- Variantes geográficas de una especie de parásitos.
- Una misma especie de parásitos en diferentes hospedadores.
- Especies diferentes de parásitos.

Esto quiere decir que, antes de pensar en resistencia, es necesario tener en cuenta la forma cómo se hace, por parte de los productores, el manejo de los antiparasitarios en las fincas, descartando las fallas terapéuticas que puedan estar determinadas por las dosis, la frecuencia de los tratamientos y el tipo de fármaco elegido para el control de los parásitos.

Existen diferentes causas que pueden reflejarse en la disminución de los niveles de eficacia de los antihelmínticos, entre ellas: el diagnóstico incorrecto del grado de eficacia, el uso inadecuado de antihelmínticos, las subdosifica-

ciones y la farmacocinética del antiparasitario; se han señalado como los más importantes.

- i) Diagnóstico incorrecto y uso inadecuado de antihelmínticos: pueden ocurrir situaciones en las que un antihelmíntico resulte absolutamente ineficaz, en particular, cuando algunas infecciones producidas por bacterias, virus o protozoarios o deficiencias de minerales produzcan signos clínicos parecidos a helmintiasis gastrointestinal en rumiantes. Situaciones similares pueden presentarse cuando se usan inadecuadamente antihelmínticos para enfrentar problemas de larvas hipobióticas, o en fases iniciales de infecciones cuando los animales pastorean en praderas muy contaminadas, en donde las infecciones y las reinfecciones son la constante permanente.
- ii) Subdosificaciones: permiten la sobrevivencia de los homocigotos y heterocigotos resistentes, eliminando sólo a los homocigotos susceptibles. Esta práctica es quizá la más común entre los productores, ya que calculan la dosis con base en la estimación del peso promedio de los animales, sin tener en cuenta las instrucciones de los fabricantes de los medicamentos antihelmínticos, y muchas veces la pistola dosificadora no está bien calibrada. También suelen presentarse subdosificaciones en infecciones mixtas por parásitos con diferentes grados de susceptibilidad, pues al utilizar la dosis que mata sólo a los más susceptibles, ésta no actúa frente a otro grupo de parásitos. En general, las subdosificaciones ocurren por el manejo inapropiado de los fármacos.
- iii) Farmacocinética de los antihelmínticos: dado que la persistencia de los antihelmínticos en el organismo de los rumiantes es bastante escasa, la reinfección de los animales desparasitados es rápida, lo que hace pensar en la ineficacia del medicamento utilizado; se observa también que las diferencias individuales e interespecíficas influyen en la farmacocinética de estos principios activos.

De otro lado, un antihelmíntico puede evidenciar una disminución en su eficacia por causa de variaciones intrínsecas en su sensibilidad –que debe ser diferenciada claramente de la resistencia– en las siguientes situaciones:

- Estadio del ciclo de vida del parásito.
- Sexos diferentes.
- Variantes geográficas de las especies.
- La misma especie de parásitos en diferentes hospedadores.
- Diferentes especies de parásitos.

A causa de la multiplicidad de factores involucrados en el surgimiento y desarrollo de la resistencia, de la casi nula posibilidad de reversión a la susceptibilidad y de las limitaciones de diverso orden para desarrollar nuevos fármacos, es imprescindible llevar a cabo un correcto diagnóstico, para lo cual es imperativo el uso de técnicas que permitan la detección temprana de este problema.

### *Metodologías para la detección de la resistencia a los antihelmínticos*

El conocimiento sobre la presencia de resistencia a los antiparasitarios puede obtenerse mediante la aplicación de tres estrategias que, por su complementariedad, permiten establecer la situación en un país o región, al tiempo que pueden servir de base para la toma de decisiones en sectores políticos, académicos y gremiales. Éstas son:

#### *Encuestas*

Las encuestas constituyen el primer nivel de conocimiento en una región de la situación de resistencia antiparasitaria y reflejan el nivel de percepción que los diferentes actores del campo pecuario tienen sobre la resistencia. Éstas, junto con el conocimiento de la prevalencia de la resistencia antihelmíntica, evidencian el nivel más general de la situación. Un caso ilustrativo de la importancia de las encuestas en este tema son los resultados revelados en una realizada por la FAO, en la que se informa que 151 países (64,5%) miembros de la Organización Internacional de Epizootias (OIE) admitieron tener problemas de resistencia de los ecto y endoparásitos a más de un antiparasitario.

A pesar de los resultados reveladores de la encuesta, hay que tener en cuenta que informaciones relativas a la producción y pérdidas económicas asociadas a la presencia de resistencia no están disponibles en muchos países del mundo y, lo que es más preocupante, 65% de los países encuestados reportó no haber efectuado este tipo de estudios, de tal manera que los datos reportados descansan en estimativos y percepciones de los servicios veterinarios oficiales de esos países.

#### *Prevalencia*

Conocer la prevalencia de los géneros o especies de nematodos gastrointestinales de rumiantes, así como de los antihelmínticos involucrados en el problema, constituye el segundo nivel general de conocimiento de la resistencia. Para ello, se re-

quiere contar con profesionales entrenados y capacitados en técnicas de detección de resistencia, con técnicas estandarizadas, un buen equipamiento de laboratorios y un tamaño adecuado de muestras estadísticamente representativo. En esta dirección, son conocidos los estudios de prevalencia de resistencia antihelmíntica en nematodos de ovinos realizados en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, considerados, hasta hoy como los estudios más grandes realizados a nivel mundial.

### *Diagnóstico particular*

Ante la evidencia clínica de la ineficacia de los antihelmínticos, el propietario de un predio puede solicitar el diagnóstico particular con el objetivo es poner en práctica medidas de corrección ante la presencia de resistencia.

Existen varios métodos que se emplean para detectar la presencia de resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales, que se pueden agrupar en tres tipos: a) pruebas *in vivo*, de campo o de reducción del número de huevos en heces, b) bioensayos o pruebas *in vitro* y c) técnicas de biología molecular, altamente sensibles, para la detección de frecuencias bajas de genes resistentes en poblaciones susceptibles a antihelmínticos. Las pruebas *in vitro* de eclosión de huevos, motilidad larval, desarrollo larval y fijación a la tubulina, se han desarrollado basadas en los diferentes mecanismos de acción de los antihelmínticos (tabla 11).

Independientemente de la metodología empleada y en aras de recoger evidencias ciertas de la presencia de resistencia, es imprescindible obtener información relacionada con la historia de las vermifugaciones, en la que figure siempre la frecuencia de los tratamientos, el tipo de antihelmínticos empleados en los últimos cinco años, las dosis empleadas de los nombres comerciales de los principios activos, así como también el manejo de las pasturas y la categoría de los animales.

Las pruebas de la reducción del hpg, de la eclosión de huevos y de la motilidad larval son las recomendadas por la WAAVP, siendo las usadas más extensamente en este tipo de experimentos. Sin embargo, estas pruebas no tienen la sensibilidad suficiente para detectar casos de resistencia en poblaciones de nematodos en que haya varios niveles de resistencia, diferentes potenciales reproductivos y donde cada especie tenga un patrón particular de resistencia a un compuesto químico particular. Así, por ejemplo, en una población de nematodos en la que un porcentaje alto de parásitos esté constituido por individuos con potencial reproductivo alto y muy sensibles a un fármaco cualquiera y por un mínimo porcentaje de una especie particular con bajo potencial biótico,

**Tabla 11.** Pruebas *in vivo* e *in vitro* usadas en la detección de resistencia antihelmíntica.

Prueba	Espectro	Tipo de prueba	Aplicación	Autor (es)
Prueba de eficacia controlada	Todas las drogas	<i>In vivo</i> PB	General	Powers <i>et al.</i> , 1982
Reducción del conteo de huevos	Todas las drogas	<i>In vivo</i> PB	General	Presidente, 1985
Eclosión de huevos	BZD	<i>In vitro</i> PB	General	Le Jambre, 1976; Coles y Simpkins, 1977; Hunt y Taylor, 1989
Parálisis larval	LV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Martin y Le Jambre, 1979
Parálisis larval	IV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Gill <i>et al.</i> , 1991 y D'Assonville <i>et al.</i> , 1996
Desarrollo larval	BZD, IV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Coles y Simpkin, 1977
Desarrollo larval	BZD, LV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Taylor, 1990
Desarrollo larval	BZD, IV, LV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Lacey y Snowden, 1988
Desarrollo larval	BZD, IV, LV	<i>In vitro</i> PB	Investigación	Hubert y Kerboeuf, 1992
Fijación a la tubulina	BZD	<i>In vitro</i> PQ	Investigación	Lacey y Snowden, 1988
Actividad de la estearasa	BZD	<i>In vitro</i> PQ	Investigación	Sutherland <i>et al.</i> , 1990
Prueba de la tubulina	BZD	<i>In vitro</i> PG	Investigación	Roos y Boersman, 1990; Le Jambre, 1990; Beech <i>et al.</i> , 1994; Elard <i>et al.</i> , 1999

PB, prueba biológica; PQ, prueba bioquímica; PG, prueba genética; BZD, benzimidazol; LV, levamisol; IV, ivermectina

Fuente: Jackson y Coop, 2000

pero fuertemente resistente al mismo fármaco, un porcentaje alto de reducción de hpg (por ejemplo, 99%) sería indicativo de que el fármaco tiene un nivel de eficacia alto, aun cuando la especie resistente sobreviva al tratamiento.

### *Pruebas in vivo*

Existen dos técnicas: la prueba de reducción del conteo de huevos por gramo de materia fecal (RCH) y la prueba de eficacia antihelmíntica controlada (anexo).

### *Prueba de reducción del conteo de huevos fecales (RCH)*

Es la técnica más práctica y más utilizada en el mundo para detectar resistencia antihelmíntica en nematodos y puede emplearse en los tres grupos de antihelmínticos.

Provee una estimación de la eficacia antihelmíntica mediante la comparación de recuentos de huevos en heces de animales antes y después de los tratamientos.

Es un método cualitativo simple, que mide la prevalencia de resistencia antihelmíntica en rumiantes, porcinos y equinos, en la que, si los porcentajes de reducción de huevos a los 10 y 14 días postratamiento, son inferiores a 95%, son indicadores de resistencia. La prueba requiere: i) animales infectados naturalmente, además de un grupo de animales de control no tratados, que sirvan como testigo de los cambios que pueden ocurrir durante el período estudiado, y b) la realización de coprocultivos para la identificación y la cuantificación de los géneros de parásitos involucrados en el fenómeno de la resistencia.

La prueba está basada en un principio, un prerrequisito y una ventaja. El principio parte de la habilidad que tienen los antihelmínticos para reducir en más de 95% el número de huevos por gramo de heces, medido a los 10 días postratamiento, en comparación con el recuento de hpg el día del tratamiento. El prerrequisito es el tamaño de los grupos en los que se evalúa un principio activo determinado, que debe ser, al menos, de 10 animales cada uno, con la conformación de un grupo control y un promedio de hpg de los grupos pretratamiento superior a 150. Tiene la ventaja de no requerir personal altamente calificado para desarrollarla ni de equipos sofisticados de laboratorio.

La prueba de RCH no detecta niveles bajos de resistencia, pero con ella puede lograrse su valoración adecuada, cuando se usa conjuntamente con coprocultivos antes y después de los tratamientos; esto la habilita como una de las técnicas más adecuadas para emplearse en estudios de campo. Una desventaja de esta prueba es el tamaño relativamente grande de los grupos requeridos antes del tratamiento.

El porcentaje de reducción del conteo de huevos puede determinarse empleando la fórmula:

$$RCH = 100 [1 - (XT / XC)]$$

En donde, T y C son las medias aritméticas de los recuentos de huevos a los 10-14 días en los grupos tratado y control, respectivamente. Esta fórmula es avalada por la WAAVP y constituye la prueba estándar en los estudios de resistencia antihelmíntica.

Esta prueba tiene las siguientes desventajas:

- Algunos estados inmaduros de los parásitos que sobreviven al tratamiento pueden desarrollarse hasta adultos y contribuir en el recuento postratamiento.
- Los resultados de esta prueba se consideran sólo como una estimación de la eficiencia antihelmíntica en estas especies, debido a que la excreción de huevos no guarda una correlación estrecha con la carga parasitaria de los rumiantes. Con algunos nematodos, como *Ostertagia spp.* y *T. colubriformis*, la correlación entre el recuento de huevos en las heces y los helmintos presentes no siempre es lineal, aunque se ha observado una buena correlación entre los recuentos de huevos y las formas adultas de *H. contortus*. En relación con *Nematodirus spp.*, los recuentos de huevos son bajos, siendo poca la correlación entre éstos y la carga parasitaria de los animales. En cabras, aunque los recuentos de huevos son por lo general altos, tampoco existe correlación entre éstos y la carga parasitaria.
- La necesidad de visitar por lo menos en tres ocasiones los predios que se evalúan.
- El requerimiento de un gran número de animales, lo que hace difícil la consecución de fincas con una población animal grande, en particular cuando se trata de evaluar más de dos compuestos químicos.
- El alto costo para llevar a cabo estos estudios y la insensibilidad relativa de la técnica, que la hace no confiable para la detección de niveles bajos de resistencia, en particular, si son inferiores a 25%.
- Algunos fármacos, como las avermectinas, pueden ejercer una supresión o una inhibición temporal en la oviposición de los parásitos, lo que puede llevar a resultados no confiables del todo. Así, algunos resultados de estudios han demostrado que si el intervalo entre los tratamientos y los recuentos postratamiento es menor de 10 días, la supresión temporal de huevos puede llevar a una sobreestimación de la eficacia, como ocurre con los benzimidazoles. Para el caso de las ivermectinas, se ha observado que la supresión temporal de la excreción de huevos se presenta en el intervalo de 10-14 días, mientras que con levamisol lo ha hecho cuando los recuentos postratamiento se hacen luego de más de 11 días, generando, por lo tanto, resultados falsos positivos. Esto sugiere la necesidad de desarrollar pruebas muy sensibles y capaces de detectar resistencia a las macrolactonas.

En este sentido, se sugiere que cuando se usen lactonas macrocíclicas, las evaluaciones postratamiento deben hacerse en los días 18-20 para evitar resultados falsos positivos. En relación con el levamisol, puede dar lugar a falsos positivos, por causa de la maduración y la oviposición de los estadios inmaduros susceptibles, debido a que este medicamento no es activo contra larvas hipobióticas y presenta algunas veces actividad incompleta contra estadios inmaduros de algunos nematodos susceptibles, cuando las evaluaciones postratamiento se realizan en períodos superiores a los 7 días.

- La influencia que pueden ejercer en los resultados las condiciones particulares en que se hacen los coprocultivos, pues, dependiendo de éstas, se puede favorecer el desarrollo de unas especies sobre otras, como puede ocurrir con los parásitos con potencial reproductivo alto, como *H. contortus*, que puede influenciar los resultados de manera dramática.

Sin embargo, algunos autores han empleado en sus ensayos distintos métodos para el cálculo y la interpretación de los resultados del RCH, observando, por una parte, que los métodos pueden influir en la toma de decisiones acerca de la continuidad o no del uso de un antihelmíntico particular en una finca y, por otra, que los resultados de la eficacia de un antihelmíntico pueden variar, dependiendo de los procedimientos matemáticos utilizados.

En ese sentido, se ha hecho uso de la fórmula:

$$RCH = 100 [ 1 - (T_2/T_1 \times C_1/C_2) ]$$

En donde, T y C son los promedios aritméticos o geométricos de hpg de los grupos control y tratado, y los subíndices 1 y 2 designan los recuentos antes y después de los tratamientos, respectivamente. Existe controversia acerca de cuál de los promedios es el más adecuado como medida de la tendencia central para el cálculo de la resistencia.

El empleo de la fórmula anterior incide en la determinación de los resultados, lo que ha generado desacuerdos cuando son reportados, en particular, cuando los cálculos dependen del uso de promedios aritméticos o geométricos. Lo mismo ocurre cuando se incluyen los recuentos de hpg antes del tratamiento de los grupos control y tratado.

Al respecto, algunos autores consideran que el método de los promedios geométricos es más apropiado que el de los aritméticos, a pesar de la crítica

a este último, dada la deducción de las comparaciones entre laboratorios. Así mismo, otros informan que, no obstante la mayor utilización de los promedios aritméticos en los cálculos de eficacia antihelmíntica, existen razones para preferir los promedios geométricos. En este sentido, la WAAVP recomienda el empleo de los promedios aritméticos, ya que provee una mejor estimación de la excreción de huevos de los parásitos, es más fácil de calcular y es una medida más conservadora de la eficacia antihelmíntica.

En este contexto, la literatura reporta el uso de dos fórmulas en las que se combinan los promedios aritméticos y geométricos, con el objeto de observar diferencias o no en los resultados. Las siguientes son las combinaciones:

- Método 1:  $RCH = 100 [1 - (T_2/C_2)]$ , en la que hacen uso de la media aritmética de los conteos de hpg de los grupos tratado ( $T_2$ ) y control ( $C_2$ ), a los 10-14 días postratamiento.
- Método 2:  $RCH = 100 [1 - (T_2/T_1)]$ , en la que se utilizan los promedios aritméticos del hpg del grupo tratado después del tratamiento ( $T_2$ ) y antes del tratamiento ( $T_1$ ).
- Método 3: en éste la evaluación se hace antes y después de los tratamientos, así:

$$RCH = 100 [1 - (T_2/T_1) \times (C_1/C_2)]$$

En donde,  $T_2$  y  $T_1$  son los promedios aritméticos del hpg antes y después de los tratamientos y  $C_1$  y  $C_2$  los promedios aritméticos antes y después de los tratamientos de los grupos controles no tratados.

- Método 4: emplea la fórmula anterior, pero la diferencia radica en que en éste se hace uso de la media geométrica. En este caso, los valores de los recuentos de hpg deben previamente transformarse [ $y = \log (\text{conteo de hpg} + 1)$ ] para calcular la media geométrica.

Esto quiere decir que los métodos disponibles para la detección de la resistencia son numerosos, aunque el método más recomendado es el que incluye los recuentos de hpg antes y después de los tratamientos de los grupos control y tratados.

### *Prueba de eficacia controlada*

Esta prueba se fundamenta en la comparación del número de nematodos gastrointestinales adultos que tienen los animales tratados y los controles luego

de ser sacrificados y necropsiados. A pesar de ser una prueba bastante sensible, siempre y cuando se usen dosis adecuadas de antihelmínticos de comprobada eficacia, es de poco uso por lo costosa que resulta en términos de laboriosidad, tiempo y costos.

### *Pruebas in vitro*

Existen diferentes pruebas *in vitro*, pero casi todas se emplean para propósitos de investigación. El empleo de estas técnicas permite cuantificar el nivel de resistencia, requiere personal altamente capacitado y muchas veces equipos de laboratorio costosos. Como es usual que las infecciones de campo sean multiespecíficas, para evitar errores en la interpretación de los resultados la técnica requiere infecciones mono-específicas, lo mismo que el mantenimiento en el laboratorio de cepas de parásitos susceptibles y resistentes a los antihelmínticos. La tabla 12 muestra las pruebas *in vitro* más usadas para la detección de resistencia antihelmíntica.

Las pruebas *in vitro* disponibles, como la de eclosión de huevos y la motilidad larval (anexo), son de uso limitado por las inconsistencias en la interpretación de los resultados y por la necesidad de mantener cepas susceptibles y resistentes. Entre las pruebas *in vitro*, la de desarrollo larval es la más sensible para la determinación de resistencia al tiabendazol y al levamisol.

La prueba de eclosión de huevos se emplea para detectar resistencia a los benzimidazoles. Se basa en la propiedad ovicida de estos compuestos químicos y en la capacidad de los huevos provenientes de cepas resistentes para embriionar y eclosionar frente a concentraciones más altas que las cepas susceptibles. Comparada con la prueba de RCH, es más rápida y económica, pudiendo emplearse en pruebas de campo, aunque no detecta resistencia cuando su porcentaje en las poblaciones de campo es inferior a 25%.

**Tabla 12.** Pruebas *in vitro* para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica.

Prueba	Para detectar resistencia a
Eclosión de huevos	Benzimidazoles, levamisol/morantel
Parálisis de huevos	Levamisol/morantel
Parálisis larval	Levamisol/morantel
Unión a la tubulina	Benzimidazoles
De desarrollo larval	Todos los grupos químicos

Fuente: FAO, 2004

La prueba de desarrollo larval se emplea para detectar resistencia a los tres principales grupos químicos y se fundamenta en la capacidad que tienen los huevos de cepas resistentes para desarrollarse hasta larvas L3 cuando se enfrentan a diferentes concentraciones de antihelmínticos. Por causa de dificultades en su desarrollo, no se emplea como diagnóstico rutinario en condiciones de campo.

Comparadas con las pruebas *in vivo*, las pruebas *in vitro* presentan las siguientes ventajas y desventajas:

- Son menos costosas que las pruebas *in vivo* debido a que requieren una sola visita a las fincas y no son necesarios animales para mantenimiento y alimentación.
- Requieren mantener en el laboratorio cepas de referencia susceptibles y resistentes, razón por la cual estas pruebas son para fines de investigación.
- Requieren personal altamente capacitado para realizar las técnicas.
- Requieren infecciones monoespecíficas para evitar errores en la interpretación de los resultados, dificultándose su empleo para el diagnóstico de la resistencia en el campo.

#### *Prueba de motilidad y parálisis larval*

La prueba se fundamenta en que algunas drogas, como el levamisol, el pirantel y el morantel, actúan produciendo parálisis de los parásitos. La prueba permite discriminar entre cepas susceptibles y resistentes mediante la estimación de larvas infectivas L3 paralizadas después de haber sido incubadas en un rango de concentraciones de levamisol y morantel. Esta prueba se ha desarrollado para medir la motilidad de *Ostertagia spp* y *Haemonchus spp*. Las larvas de los parásitos se exponen durante 24 horas a diferentes concentraciones de una determinada droga; posteriormente se les mide el grado de motilidad en un medidor de micromotilidad. Esta prueba tiene la desventaja de la subjetividad en la medición para definir si una larva está paralizada o no. Además, se informa que muchas veces se obtienen curvas atípicas de dosis-respuesta.

De otro lado, y a pesar de la relativa facilidad para desarrollar esta técnica, las larvas deben obtenerse rápida y adecuadamente. Las diferencias encontra-

das en cuanto a la repetición de la prueba se atribuyen a la edad de las larvas. Es importante tener en cuenta la dificultad en la interpretación de los resultados: por ejemplo, si el antihelmíntico se adiciona muy temprano a la suspensión de huevos, el desarrollo de éstos no será suficiente, y si la adición del antihelmíntico se hace muy tarde, entonces el medicamento no actúa. Con el fin de mejorar la prueba, se le han hecho varias modificaciones.

#### *Prueba de eclosión de huevos*

Se desarrolló en 1976 para detectar resistencia a los benzimidazoles. Tiene como fundamento el hecho de que los benzimidazoles impidan la embriogénesis y la eclosión de los huevos y, por lo tanto, la producción de los estados de vida libre de los helmintos; cuando los nematodos son resistentes, son refractarios al efecto ovicida de los benzimidazoles. La técnica permite diferenciar cepas susceptibles de parásitos resistentes a benzimidazoles y levamisol. Es una prueba más rápida y económica que la prueba de reducción de hpg y es un buen método para evaluar la susceptibilidad de poblaciones mixtas de nematodos.

El fundamento de la prueba es determinar el porcentaje de huevos que no eclosionan cuando se enfrentan a diferentes concentraciones de un antihelmíntico, comparado con una solución de huevos control. La robustez de la prueba está en relación con el uso de huevos frescos, pues los benzimidazoles solo actúan en la primera fase de desarrollo de los huevos; cuando éstos han embrionado, se disminuye la susceptibilidad a estos compuestos, obteniéndose resultados falsos positivos. Por esta razón, la recomendación es usar huevos que no hayan superado las tres horas de haber sido excretados. La técnica se comporta bien cuando se trabaja con especies de nematodos que eclosionan rápidamente.

A causa de las modificaciones que se le han hecho a la técnica y a que se usen diferentes cepas susceptibles, se dificulta la comparación de resultados entre laboratorios. Así mismo, por las dificultades propias de la prueba, su uso es limitado en ensayos de campo.

En general, la prueba consiste en incubar huevos de nematodos no desarrollados en una serie de concentraciones de benzimidazoles, durante 48 horas, a 25-27 °C y 80% de humedad relativa, para luego determinar el porcentaje de huevos que eclosionan. El porcentaje de huevos que se desarrolla y/o embriona se corrige con base en la mortalidad natural de los controles no tratados, y los datos se someten al análisis probit, para el cálculo de  $LC_{50}$ . Se debe realizar el

cultivo de larvas hasta larvas L3 de los huevos eclosionados, para identificar los géneros de parásitos involucrados en la resistencia.

### *Prueba de fijación a la tubulina*

Esta prueba tiene como fundamento el mecanismo de acción de los antihelmínticos. Como el mecanismo de acción de los benzimidazoles está relacionado con la disminución de la afinidad de los receptores de la tubulina a estos compuestos, la técnica se ha desarrollado para evaluar su grado de unión a la tubulina.

El desarrollo de la prueba requiere la incubación de un extracto crudo de tubulina de parásitos adultos, de larvas infectivas o de huevos con un benzimidazol marcado con tritio, hasta alcanzar un equilibrio. La porción de fármaco que queda libre en la suspensión se remueve con carbón vegetal y se mide el complejo benzimidazol tritiado-tubulina en un contador de centelleo líquido. Los extractos de tubulina de parásitos resistentes se unen mucho menos a la droga que los de parásitos susceptibles. La prueba tiene la ventaja de estar estandarizada, facilitándose la comparación de resultados entre laboratorios con más confianza que con otras pruebas *in vitro*. Además, tiene otras ventajas, como ser rápida, robusta, sensible y reproducible.

Sin embargo, su principal desventaja es que requiere un equipamiento de laboratorio bastante costoso y personal altamente especializado y entrenado.

### *Prueba de desarrollo larval*

Consiste en incubar huevos de nematodos en pozos de una placa de multi-pozos que contienen un medio nutritivo para que los huevos se desarrollen y las diferentes concentraciones de antihelmíntico en diluciones seriadas. Se debe preparar un pozo de control que contenga solamente medio nutritivo. Los huevos se dejan desarrollar hasta larvas infectantes del tercer estadio, para luego ser examinadas e identificadas. Aunque se ha desarrollado con éxito esta prueba usando benzimidazoles, no ocurre lo mismo con el levamisol y la ivermectina, pues no producen curvas normales de dosis-respuesta. Sin embargo, esta prueba tiene dos ventajas: provee una correlación directa entre la eficacia de la droga *in vivo* e *in vitro*, requiriendo tan sólo una visita a la finca y posibilita la identificación, por la morfología de larvas, de los géneros involucrados en la resistencia. Otras ventajas adicionales son que permite diagnosticar resistencia simultáneamente a más de un antihelmíntico, como benzimidazoles, levamisol, avermectinas/milbemicinas, y combinar de drogas, como benzimidazoles y

levamisol. Además, es la prueba más empleada para el diagnóstico de resistencia en campo.

De todas las pruebas desarrolladas, la ideal para detectar de manera inequívoca estados de resistencia es la evaluación post-mortem de animales tratados y no tratados, que permite determinar con exactitud las especies y estados de desarrollo de los parásitos, así como la susceptibilidad o resistencia a los compuestos ensayados. Pero razones de diversa índole, como sus costos elevados, esta prueba es poco utilizada. Sin embargo, tanto las pruebas *in vivo* como las pruebas *in vitro* tienen desventajas en términos de costo, aplicabilidad e interpretación y reproducibilidad de los hallazgos.

En la actualidad, se está trabajando para desarrollar métodos de detección muy sensibles basados en biología molecular, como las sondas de DNA, que permitirán detectar genes de resistencia de muy baja frecuencia en poblaciones aparentemente susceptibles. Con el empleo de la técnica de PCR (reacción en cadena de polimerasa) se detectó el primer individuo resistente en una población parasitaria por medio de la genotipificación de numerosos parásitos. La misma técnica permite identificar larvas o parásitos resistentes (rr) o susceptibles rS y SS.

#### *Diagnóstico molecular*

Permanentemente se afirma que es necesario mantener la eficacia de los antihelmínticos en zonas donde la resistencia no haya aparecido y, para evitar posteriores selecciones de resistencia, donde haya hecho presencia. Sin embargo, tal afirmación es posible sólo si existieran herramientas adecuadas disponibles para el diagnóstico de este problema, pues las pruebas *in vivo* son costosas y laboriosas, mientras que las pruebas *in vitro* de desarrollo larval y de eclosión de huevos, aunque son, de lejos, menos laboriosas que las primeras, se emplean principalmente en estudios de prevalencia, en particular en estudios de resistencia a los benzimidazoles. De otro lado, las pruebas desarrolladas para evaluar el pirantel y las lactonas macrocíclicas tienen el inconveniente de la ausencia de sensibilidad y la escasa correlación con la prueba *in vivo* de RCH.

Para superar estas limitaciones, las herramientas moleculares abren nuevas perspectivas para la investigación sobre resistencia a los antihelmínticos. Con este fin se han desarrollado varios protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), más consistentes y sensibles cuando se usan para investigar parásitos individuales. Se emplea esta técnica para detectar la mutación que

ocurre en el gen de la  $\beta$ -tubulina, causante de la resistencia a los benzimidazoles. Tiene, hasta ahora, la desventaja de que la consistencia de los resultados depende de la representatividad del número de muestras (100), lo que la hace costosa y limita su uso a estudios epidemiológicos.

En general, puede afirmarse que, por causa de las dificultades para el desarrollo de estas técnicas, las recomendadas para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica son las pruebas de RCH, la de eclosión de huevos y la de motilidad larval.

## RECOMENDACIONES PARA UN MEJOR USO DE LOS ANTIHELMÍNTICOS

El éxito de los tratamientos con antihelmínticos tiene que ver con ciertas prácticas relacionadas con el manejo de los antiparasitarios y de los rumiantes. Resultados de estudios han demostrado que la adopción de ciertas prácticas puede maximizar la acción de los fármacos, llevando a que un número mayor de parásitos puedan ser eliminado y, por lo tanto, a una contaminación menor de las pasturas. La atención debe centrarse en los siguientes puntos:

- a. *Poner la jeringa o pistola dosificadora sobre la lengua.* Es importante que el antihelmíntico llegue al sitio correcto, en donde se encuentran los parásitos objeto de control. Una dosificación recomendada y aplicada de acuerdo con el peso del animal puede verse reducida si el medicamento no llega al sitio adecuado. Los medicamentos orales, como los benzimidazoles, deben ir directamente al primer estómago, o rumen, para que puedan liberarse lentamente y pueda obtenerse una exposición prolongada. Si el medicamento se coloca en la parte anterior de la lengua, se puede estimular el surco esofágico, permitiendo el *by-pass* del rumen y reducir el tiempo de duración del medicamento necesario para eliminar los parásitos.
- b. *Reducir el consumo del alimento antes de la vermifugación.* Se ha demostrado que la reducción del consumo de alimentos 24 horas antes de la vermifugación disminuye el flujo del contenido intestinal desde el rumen, con lo que se obtiene una permanencia mayor del vermífugo y una mayor eficacia en la eliminación de los parásitos.

La recomendación es separar por la mañana los animales programados para los tratamientos y proveerles mínimas cantidades de alimento o ninguna, permitiéndoles sólo el acceso al agua durante el resto del día y la noche; se vermifugan la mañana siguiente y no se les permite el acceso al alimento hasta 6 horas después de la vermifugación, con lo que se consigue el efecto máximo. Si

bien es una práctica que no resulta fácil de implementar en los sistemas de producción ganaderos, debe convencerseles con la demostración de las bondades de esta práctica al comparar los resultados de este grupo –que debe evidenciar recuentos menores de hpg en el monitoreo parasitológico– con el grupo de animales que se vermifugó en forma tradicional.

- c. *Usar la dosis recomendada.* El uso de dosis ajustadas a las recomendaciones de los fabricantes permite que las drogas permanezcan en el animal durante un tiempo determinado. En lo posible, no se debe duplicar la dosis, aún bajo sospecha de resistencia. Si el nivel de eficacia del antihelmíntico se nota disminuido por resistencia diferente al levamisol, en vez de duplicar la dosis es preferible aplicar dos tratamientos, a las dosis recomendadas y separadas por un intervalo de 12 horas. Es ideal, si fuera posible, combinar este método con una disminución del alimento antes del tratamiento.

## Conclusiones

- El uso exclusivo de antihelmínticos para el control de los parásitos gastrointestinales de los rumiantes ha demostrado no ser sustentable, con el agravante que el uso indiscriminados de estos insumos químicos ha conducido al surgimiento de la resistencia en las poblaciones de nematodos gastrointestinales de estos animales.
- La resistencia a los antihelmínticos es preadaptativa, ocurre por medio de mutaciones en los genes y es heredable. No obstante su naturaleza genética, su causa es multifactorial, y su desarrollo depende de factores operacionales, bajo control humano, y de factores internos propios del parásito.
- De los factores que contribuyen al desarrollo y la extensión de la resistencia, la proporción de la población de parásitos que permanece en refugio en las pasturas es considerada la de mayor importancia para su desarrollo.
- La resistencia puede diagnosticarse empleando técnicas *in vivo* e *in vitro*. De las distintas técnicas existentes en la actualidad, ninguna es lo suficientemente sensible, por lo que se dificulta detectarla antes de que 25% de nematodos sea resistente. Por esta razón es difícil predecir la aparición de la resistencia, así como implementar las medidas iniciales para controlarla antes de que lleque al nivel señalado.
- El control de la resistencia requiere el diseño y la implementación de diferentes estrategias que puedan integrarse bajo el enfoque del control integrado de parásitos.

- La mayor documentación existente sobre la resistencia antihelmíntica corresponde a la especie ovina. El problema se ha extendido hasta convertirse en la principal amenaza para el control de la mayoría de las especies de nematodos parasíticos de esta especie.
- En bovinos, el problema de la resistencia es mucho menos severo, según los escasos reportes conocidos hasta ahora. Sin embargo, el problema existe ya en esta especie, siendo Colombia uno de los países en donde este problema se ha hecho presente. Es posible que estas diferencias en la prevalencia de la resistencia entre estas dos especies obedezca a los pocos estudios llevados a cabo en la especie bovina, por una parte, y a diferencias intrínsecas de estas especies y de manejo, en particular las relacionadas con el control de los parásitos.

## RECOMENDACIONES

1. Llevar a cabo un estudio, inicialmente a través de encuestas, para conocer la prevalencia en el país de la resistencia a los antihelmínticos.
2. Efectuar estudios y diagnósticos de la resistencia antihelmíntica en diferentes sistemas de producción ganaderos y en varias regiones de Colombia, en particular, en los sistemas de producción de carne y de doble propósito.
3. Hacer uso de metodologías con técnicas moleculares para confirmar los hallazgos iniciales y posteriores en Colombia.
4. El país requiere de una institucionalidad fuerte en la parte de transferencia de tecnología, que le permita a los ganaderos incorporar en sus sistemas de producción prácticas adecuadas para el control de los parásitos gastrointestinales y buenas prácticas de manejo de medicamentos veterinarios, ya que es probable que falten muchos años para que las estrategias que se señalan como herramientas fundamentales en la lucha contra los parásitos entren en el mercado con posibilidades de éxito.
5. Dirigir esfuerzos a la capacitación adecuada a los médicos veterinarios con el fin de emplear racionalmente los antiparasitarios en las fincas y de crear la necesidad de los monitores parasitológicos y de resistencia.

# Bibliografía

- Anziani, O. 2003. Resistencia de los nematodos gastrointestinales de los bovinos a los anti-helmínticos. En: [www1.inta.gov.ar/producto/helminto/tandil.htm](http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/tandil.htm).
- Anziani, O.S., Suárez, V., Guglielmone, A.A., Wranke, O., Grande, H. y Coles, G.C. 2004. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone in cattle nematodos in Argentina. *Veterinary Parasitology* 122: 303-306.
- Artho, R., Schnyder, M., Kohler, L., Torgerson, P.R. y Hertzberg, H. 2007. Avermectin-resistance in gastrointestinal nematodes of Boer goats and Dorper sheep in Switzerland. *Veterinary Parasitology* 144: 68-73.
- Barger, I. 1997. Control by management. *Veterinary Parasitology* 72(3-4): 493-506.
- Besier, B. 2006. New anthelmintics for livestock: the time is right. *Trends in Parasitology* 23(1): 20-24.
- Borgsteede, F. y Duyn, S. 1989. Lack of reversion of a benzimidazole resistant strain of *Haemonchus contortus* after six years of levamisole usage. *Research in Veterinary Science* 47: 270-272.
- Brunsdon, R. 1980. Principles of helminth control. *Veterinary Parasitology* 6: 186-215.
- Cabaret, J., Bouilhol, M. y Mage, Ch. 2002. Managing helminthes of ruminants in organic farming. *Veterinary Research* 33(5): 625-640.
- Cabaret, J. y Silvestre, A. 2003. Electronic conference II response. En: FAO. Sustainable parasite management . Where to now?
- Cabaret, J. y Berrag, B. 2004. Faecal egg count reduction test for assessing anthelmintic efficacy: average versus individually based estimations. *Veterinary Parasitology* 121: 105-113.
- Campos, R., Herrera, D. y Quiroz, H. 1992. Diagnóstico in vitro de *Haemonchus contortus* resistente al albendazol, fenbendazol, oxfendazol y febantel en tres rebaños ovinos Tabasco o Polibuey. *Veterinaria Mexicana* 23(1): 51-56.
- Campos, R., Limón, E. y Sáenz, M. 1995. Efectividad en ovinos del albendazol y oxfendazol administrados solos o combinados contra nematodos resistentes y susceptibles al tiabendazol. Memoria Técnica N° 9. Clave R 95001.
- Caracostantogolo, J., Castaño, R., Cutullé, Ch., Cetrá, B., Lamberte, R., Olaechea, F., Ruiz, M., Martínez, M., Balbiani, G., Castro, M. y Morici, G. 2006. Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. [cniia.inta.gov.ar/helminto/pdf/Resistencia/Caracostantogolo.pdf](http://cniia.inta.gov.ar/helminto/pdf/Resistencia/Caracostantogolo.pdf)
- Charon, K.M. 2004. Genes controlling resistance to gastrointestinal nematodes in ruminants. *Animal Science Papers and Reports* 22(1): 135-139.

- Coles, G., Pritchler, H. y Giordano, D. 1988. Larval development test for detection of anthelmintic resistant nematodes. *Research in Veterinary Science* 45.: 50-53.
- Coles, G., Bauer, C., Borgsteede, F., Klei, T., Taylor, M. y Waller, P. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44: 35-44.
- Coles, G.C. 2002. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases?. *Veterinary Research* 33(5): 481-489.
- Coles, G.C. 2002. Sustainable use of anthelmintics in grazing animals. *Veterinary Record* 151: 165-169.
- Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylos, M.A. y Verruyse, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136: 167-185.
- Conder, G. 1998. Field efficacy of doramectin pour-on against naturally-acquired, gastrointestinal nematodes of cattle in North America. *Veterinary Parasitology* 77(4): 259-265.
- Craig, T. 1993. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 46: 121-131.
- Craig, T., Armour, J., Bandler, K. y Duncan, J. 1993. The pattern of faecal egg output in lambs infected with a multiple resistant strain of *Haemonchus contortus* after treatment with albendazole. *Afr. Vet. Ass.* 64(1): 31-34.
- Dangolla, A., Bjorn, H., Willeberg, P. y Barnes, E. 1997. Faecal egg count reduction percentage calculations to detect anthelmintic resistance in *Oesophagostomum spp.* in pigs. *Veterinary Parasitology* 68: 127-142.
- Dobson, R. J., Lejambre, L. y Gill, J. H. 1996. Management of anthelmintic resistance: inheritance of resistance and selection with persistent drugs. *International Journal for Parasitology* 26(8/9): 993-1000.
- Echevarría, F. y Alfredo, P. 1989. Avaliação de resistencia anti-helmintica em rebanhos ovinos no municipio de Bagé, RS. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 9: 69-71.
- Echevarría, F. 1996a. Antihelmínticos e resistencia antihelmíntica. En: *Memorias Curso-taller internacional de epidemiología y diagnóstico de endoparásito sen rumiantes: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, Bogotá*. 220 p.
- Echevarría, F. 1996. Epidemiología das helmintiasis em rumiantes em pastoreio em condições de trópico. En: *Memorias Curso-taller internacional de epidemiología y diagnóstico de endoparásitos en rumiantes. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, Bogotá*. 220 p.
- Elard, C.I. y Humbert J.S. 1999. PCR diagnosis of benzimidazole. Susceptibility or resistance in natural populations of the small ruminant parasites *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Parasitology* 80(3): 231-237.
- FAO. 2002. Sustainable worm management: an electronic conference. En: <http://www.worms.org.za>.
- FAO. 2004. Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Animal Production and Health Division Agriculture Department, Roma. 216 p.
- Farias, M.T., Bordin, E., Forbes, A. y Newcomb, K. A. 1997. Survey on resistance to anthelmintics in sheep study farms of southern Brazil. *Veterinary Parasitology* 72(2): 209-215.

- Fiel, C., Ansían, O., Suárez, V., Vásquez, R., Eddi, C., Romero, J., Caracostantogolo, J., Saunell, C., Costa, J. y Steffan, P. 2001. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. [http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001\\_63.htm](http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2001/a2001_63.htm)
- Gibson, T. 1980. Factors influencing the application of anthelmintics in practice. *Veterinary Parasitology* 6: 241-254.
- Gilleard, J.S. 2006. Understanding anthelmintic resistance: the need for genomics and genetics. *Veterinary Parasitology* 36: 1227-1239.
- Gray, G. 1997. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. *Veterinary Parasitology* 72: 345-366.
- Griffiths, I. B., Parra, D., Vizcaíno, O. y Gallego, M.I. 1986. Prevalence of parasite eggs and cysts in faeces from in dairy cows in Colombia. *Tropical Animal Health Production* 28: 155-157.
- Halley, B., Vandenheuvel, W. y Wislocki, P. 1993. Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. *Veterinary Parasitology* 48(1-4): 109-125.
- Jackson, F., Jackson, E. y Coop, R. 1993. Evidence of multiple anthelmintic resistance in a strain of *Teladorsagia circumcincta* (*Ostertagia circumcincta*) isolated from goats in Scotland. *Research in Veterinary Science* 53: 371-374.
- Jackson, F. 1993. Anthelmintic resistance. The state of play. *British Veterinary Journal* 149: 123-135.
- Jackson, F. y Coop, R.L. 2000. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology* 120: 95-107.
- Jones, R., Bogan, N., Weatherley, A., Little, A. y Smothers, C. 1993. Activity of doramectin against nematode endoparasites of cattle. *Veterinary Parasitology* 49(1): 27-37.
- Kaplan, R.M. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology* 20(10): 477-481.
- Ketzis, J. K. 2001. New parasite control methods. How will they affect livestock nutrition and diets? En: <http://www.ansci.cornell//edu/tmplobs/baagzAD7b.pdf>.
- Köler, P. 2001. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology* 31: 336-345.
- Knox, M.R. 2002. Effectiveness of copper oxide wire particles for *Haemonchus contortus* control in sheep. *Australian Veterinary Journal* 80(4): 224-227.
- Kumar, R. y Yadav, C. 1994. Prevalence of fenbendazol resistance in ovine nematodes in north west India. *Tropical Animal Health and Production* 26: 230-234.
- Lanusse, C. y Prichard, R. 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminants anthelmintics. *Veterinary Parasitology* 49: 123-158.
- Larsen, M. 1999. Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology* 29: 139-146.
- Leathwick, D.M., Pomroy, W.E. y Heath, A.C. 2001. Anthelmintic resistance in New Zealand 49(6): 227-235.
- Le Jambre, L. 1997. Genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. En: 10° Seminario Brasileiro de parasitología veterinaria. Primer seminario de parasitología dos países do Mercosul. *Anais. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 6(2). 485 p.
- Le Jambre, L., Gill, J.H., Lenane, I.J. y Baker, P. 2000. Inheritance of avermectin resistance in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology* 30: 105-111.

- Maciel, S., Jiménez, A., Gaona, G., Waller, P. y Hansen, J. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. *Veterinary Parasitology* 62(3-4): 207-212.
- Márquez, D., Jaramillo, F. y Romero, A. 2000. Dinámica del parasitismo gastrointestinal en bovinos del hato de Tibaitatá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia* 47(2): 49-56.
- Márquez, D., García, F., Jiménez, G., Garzón, C., Alarcón, R., Basto, G. y Albarracín, L. 2003. Diseño de estrategias para el control de ecto y endoparásitos del ganado en trópicos medio, bajo y de altura, de Cundinamarca y Boyacá. Informe técnico final. Pronatta.
- Márquez, D. 2003. Resistencia antihelmíntica: origen, desarrollo y control. *Revista de Corpoica* 4(1): 55-71.
- Márquez, D., García, F., Jiménez, G. y Garzón, C. 2007. Determinación de la resistencia a los antihelmínticos y factores de riesgo asociados a su presentación en nematodos de bovinos del sistema de producción de leche en la Sabana de Bogotá, valles de Ubaté y Chiquinquirá y Alto Chicamocha. En prensa.
- Martin, R.J. 1996. An electrophysiological preparation of pharyngealmuscle reveals a glutamate-gated chloride channel sensitive to the avermectin analogue milbemycin. *Parasitology* 112: 247-252.
- Martin, R. J., Murray, I., Robertson, A. P., Bjorn, H. y Sangster, N. 1998. Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. *International Journal for Parasitology* 28: 849-862.
- Martin, R.J. y Robertson, A.P. 2000. Electrophysiological investigation of anthelmintic resistance. *Parasitology* 120: 87-94.
- Mbarria, J., Maitho, T., Mitema, E. y Muchuri, D. 1998. Comparative efficacy of pyrethrum marc with albendazole against sheep gastrointestinal nematodes. *Tropical Animal Health and Production* 30: 17-22.
- Mckellar, Q.A. 1997. Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology* 72(3-4): 413-435.
- Mckellar, Q.A. y Jackson, F. 2004. Veterinary anthelmintics: old and new. *Trends in Parasitology* 20(10): 456-461.
- Mejía, M.E., Fernández, B.M., Schmidt, E.E. y Cabaret, J. 2003. Multispecies and multiple resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance? *Veterinary Research* 34(4): 461-467.
- Moll, L., Gaasenbeek, C., Vellema, P. y Borgsteede, F. 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in the Netherlands. *Veterinary Parasitology* 51: 153-158.
- Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. [www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf/%20resistencia/Motier2.pdf](http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf/%20resistencia/Motier2.pdf).
- Morley, F.H. y Donald, A.D. 1980. Farm management and systems of systems of helminth control. *Veterinary Parasitology* 6: 105-134.
- Mwamachi, D., Audho, J., Thorpe, W. y Baker, R. 1995. Evidence for multiple anthelmintic resistance in sheep and goats reared under same management in coastal Kenya. *Veterinary Parasitology* 60(3-4): 303-313.

- Nari, A., Salles, J., Gil, A., Waller, P. y Hansen, J. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Veterinary Parasitology* 62(3-4): 213-222.
- Nari, A., Hansen, J., Eddi, C. y Martins, J. 2000. Control de la resistencia a los antiparasitarios a la luz de los conocimientos actuales. XXI Congreso Mundial de Buiatría, Punta del Este, Uruguay. 4-8 de diciembre de 2000. 20 p.
- Padilha, T. y Mendoza-de Gives, P. 1996. Controle microbiano das formas de vida livre dos nematódeos trichostrongilídeos: uma alternativa para higienização das pastagens. En: Controle dos nematódeos gastrointestinais em ruminantes. EMBRAPA. Coronel Pacheco, Brasil. 258 p.
- Padilha, T. 1999. Biological control. *International Journal for Parasitology* 29: 153-154.
- Parra, D. y Uribe, L. F. 1990. Epidemiología de nematodos del bovino en el piedemonte de los Llanos Orientales de Colombia. *Revista ACOVEZ* 14(4): 16-25.
- Pinheiro, A. y Echevarría, F.A. 1990. Susceptibilidad de *Haemonchus spp.* em bovinos ao tratamento anto-helmíntico com albendazole e oxfendazole. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 10(1-2): 19-21.
- Prichard, R. y Ranjan, S. 1993. Anthelmintics. *Veterinary Parasitology* 46(1-4): 113-120.
- Prichard, R. 1994. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 54(1-3): 259-268.
- Prichard, R. 2001. Genetic variability following selection for *Haemonchus contortus* with anthelmintics. *Trends in Parasitology* 17(9): 445-453.
- Rivera, B., Parra, D., García, O. y Aycardi, E. 1983. Gastrointestinal parasites in calves in Colombia. *Tropical Animal Health and Production* 15: 107-114.
- Rodríguez, J. 1996. Identificación de las formas adultas de los principales helmintos de rumiantes. En: Memorias Curso-taller internacional de epidemiología y diagnóstico de endoparásitos en rumiantes. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, Bogotá. 220p.
- Rolfe, P.F. 2002. Chemical resistance in livestock. An overview. Agricultural Institute New South Wales, Department of Agriculture and Fisheries, NSW2570. Html. 10 p.
- Sáenz, M., Campos, R., Ibarra, G., Zapata, M. y Lizárraga, G. 1991. Diagnóstico *in vitro* de una población de *Haemonchus contortus* de caprino resistente al tiabendazol. *Técnica Pecuaria en México* 29(3): 1-5
- Samson-Himmelstjerna, G. 2006. Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 136(2): 99-107.
- Sangster, N.C. 1999. Anthelmintic resistance: past, present and future. *International Journal for Parasitology* 29: 115-124.
- Sangster, N.C. y Gill, J. 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitology Today* 15(4): 141-146.
- Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. *Veterinary Parasitology* 98: 89-109.
- Scott, E.W. y Armour, J. 1991. Effect of development of resistance to benzimidazoles, salicylanilides and ivermectin on the pathogenicity and survival of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Record* 128: 346-349.
- Sievers, G., Quintana, I., Cortese, F. y Ernst, F. 1998. Variación anual de la ubicación de las larvas infectantes de trichostrongilidos del bovino sobre el pasto de un potrero en Valdivia, Chile. *Arch. Med. Vet.* 30(1): 47-54.

- Silvestre, A., Leignel, V., Berrag, B., Gasnier, N., Humert, J.F., Chartier, Ch. y Cabaret, J., 2002. Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Veterinary Research* 33: 465-480.
- Sissay, M., Asefa, A., Uggla, A. y Waller, P.J. 2006. Anthelmintic resistance on nematodes parasites of small ruminants in eastern Ethiopia: exploitation of refugia to restore anthelmintic efficacy. *Veterinary Parasitology* 135: 337-346.
- Soutello, R.G., Seno, M.C., Amarante, A.F. 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 148: 360-364.
- Smith-Buijs, C. y Borgsteede, F. 1986. Effect of cool storage of faecal samples containing *Haemonchus contortus* eggs on the results an in vitro egg development assay to test anthelmintic resistance. *Research in Veterinary Science*. 40: 4-7.
- Smothers, C.D., Sun, F. y Dayton, A.D. 1999. Comparison of arithmetic and geometric means as measures of a central tendency in cattle nematode populations. *Veterinary Parasitology* 81: 211-224.
- Sommer, C. y Steffansen, B. 1993. Changes with time after treatment in the concentrations of ivermectin in fresh cow dung and in cow pats aged in the field. *Veterinary Parasitology* 48(1-4): 67-73.
- Stear, M. J., Strain, S. y Bishop, S.C. 1999. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *International Journal for Parasitology* 29: 51-56.
- Stromberg, B. 1997. Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology* 72(3-4): 247-264.
- Stron, L. 1993. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Veterinary Parasitology* 48(1-4): 3-17.
- Strong, L., Wall, R., Woolford, A. y Djeddour, D. 1996. The effect of faecally excreted ivermectin and fenbendazol on the insect colonization of cattle dung following the oral administration of sustained-release boluses. *Veterinary Parasitology* 62(3-4): 253-266.
- Suárez, V.H. y Cristel, S.L. 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematodo in the western Pampeana Region of Argentina. *Veterinary Parasitology* 144: 111-117.
- Taylor, M. 1990. A larval development test for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of sheep. *Research in Veterinary Science* 49: 198-202.
- Taylor, M., Hunt, K., Wilson, C. y Baggott, D. 1990b. Efficacy of ivermectin against benzimidazole-resistant nematodes of sheep. *Veterinary Record* 127: 302-303.
- Taylor, M., Hunt, K. y Goodyear, K. 2002. Anthelmintic resistance detection methods. *Veterinary Parasitology* 103: 183-194.
- Thomas, B. 1982. The ecological basis of parasite control: nematodes. *Veterinary Parasitology* 11: 9-24.
- Torgerson, P.R., Schnyder, M. Y Hertzberg, H. 2005. Detection of anthelmintic resistance: a comprison of mathematical techniques. *Veterinary Parasitology* 128(3-4): 291-298.
- Torres-Acosta, J.F.J., Aguilar-Caballero, A.J., Le Bigot, C., Hoste, H., Canal-Ku, H.L., Santos-Ricalde, R. y Gutiérrez-Segura, I. 2005. Comparing different formulae totest for gastrointestinal nematodo resistance to benzimidazoles in smallholder faros in Mexico. *Veterinary Parasitology* 134: 241-248.

- Tullner, F., Roqueme, L. y Otte, J. 1993. Investigaciones sobre la ocurrencia, epidemiología e importancia económica de los helmintos en terneros en el departamento de Córdoba, Colombia. Proyecto ICA-GTZ. Informe técnico N° 10. 58 p.
- Uilenberg, G. 1996. Integrated control of tropical animal parasitoses. *Tropical Animal Health and Production* 28: 257-265.
- Van Wik, J., Bath, G. y Malan, F. 1998. The need for alternative methods to control nematode parasites of ruminant livestock in South Africa. *World Animal Review* 91(2): 30-33.
- Van Wyk, J. 2001. Refugia. Overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 68: 55-67.
- Van Wyk, J. y Bath, G. 2002. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research* 33(5): 509-529.
- Vercruyse, J. y Dorny, P. 1999. Integrated control of nematode infections in cattle: A reality? A need? A future? *International Journal for Parasitology* 29:165-175.
- Waller, P., Dobson, R. y Axelsen, A. 1988. Anthelmintic resistance in the field: changes in resistance status of parasitic populations in response to anthelmintic treatment. *Australian Veterinary Journal* 65(12): 376-379.
- Waller, P. 1993. Towards sustainable nematode parasite control of livestock. *Veterinary Parasitology* 48: 295-309.
- Waller, P., Dask, K., Barger, I., Le Jambre, L. y Plant, J. 1995. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from Australian experience. *The Veterinary Record* 22: 411-413.
- Waller, P., Echevarria, F., Eddi, C., Maciel, S., Nari, A. y Hansen, J. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites in Southern Latin America: general overview. *Veterinary Parasitology* 62(2-3): 181-187.
- Waller, P. 1997. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 72: 391- 412.
- Waller, P. 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology* 29: 155-164.
- Williams, J. 1997. Anthelmintic treatment strategies. Current status and future. *Veterinary Parasitology* 72: 461-477.
- Williams, J.C. 1991. Efficacy of albendazol, levamisol and fenbendazol against gastrointestinal nematodes of cattle, with emphasis on inhibited early fourth stage *Ostertagia ostertagi* larvae. *Veterinary Parasitology* 40(1-2): 59-71.
- Williams, J.C. y Broussard, S.D. 1995. Comparative efficacy of levamisole, tiabendazole and fenbendazole against cattle gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology* 58: 83-90.
- Wolstenholme, A.J., Fairweather, I., Prichard, R., Samson-Himmelstjerna, G. y Sangster, N.C. 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology* 20: 469-476.
- Wood, I., Amaral, N., Bairden, K., Duncan, J., Tassai, T., Malone, J., Pankavich, J., Reineke, R., Slocombe, O., Taylor, S. y Veracruise, J. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology* 58: 181-213.
- Yates, D.M., Portillo, V. y Wolstenholme, A. 2003. The avermectin receptors of *Haemonchus contortus* and *Caenorhabditis elegans*. *International Journal for Parasitology* 33: 1183-1193.



# Capítulo III

Alternativas no químicas de control:  
el control biológico

---



Los parásitos internos del ganado causan enfermedades parasitarias, ocasionando pérdidas en la industria ganadera por los efectos adversos que producen en los bovinos, no obstante el formidable logro obtenido gracias al descubrimiento y desarrollo de drogas antihelmínticas. Estos endoparásitos reducen la ganancia de peso y la producción de leche y/o carne, en particular, en regiones tropicales como Colombia, en donde las condiciones ambientales, como humedad y temperatura, son óptimas para su desarrollo y supervivencia.

Para contrarrestar los perjuicios ocasionados por los parásitos gastrointestinales, la mayor parte de los ganaderos ha empleado por lo general, y de manera indiscriminada, medicamentos antihelmínticos; práctica que se ha facilitado por la existencia de una gama variada de compuestos antihelmínticos de amplio espectro y alta eficacia. Infortunadamente, el uso irracional de estas eficientes sustancias químicas ha llevado a inconvenientes como: 1) aparición de resistencia a los antihelmínticos en las poblaciones de nematodos, 2) efectos ecotóxicos, en particular, en los organismos no blanco en el ambiente, como la microfauna benéfica del estiércol, y 3) presencia de residuos de estas sustancias químicas en productos de origen animal, principalmente en la leche.

Este problema, aunado a: el surgimiento de la resistencia de los parásitos a los antihelmínticos, a las cada vez mayores exigencias de los consumidores para la producción de alimentos con mínimos niveles de residuos químicos y de la generación de un impacto ambiental negativo menor en los procesos de producción de estos alimentos, ha estimulado la búsqueda y el desarrollo de métodos alternativos no químicos de control, con el objeto de minimizar el uso de antihelmínticos e implementar esquemas de control de endoparásitos del ganado tendientes a producir alimentos inocuos y de mayor calidad.

Entre las alternativas no químicas de control en investigación se destacan actualmente: el desarrollo de vacunas, la selección de animales resis-

tentes mediante la identificación de marcadores moleculares asociados a la resistencia genética de los hospedadores a los endoparásitos y el control biológico, entendido éste como la identificación y el uso de enemigos naturales para el control de las formas de vida libre de los nematodos gastrointestinales en las pasturas, entre los que se encuentran los hongos nematófagos. Si bien estas herramientas tienen estados de desarrollo diferentes, el control biológico constituye hoy la posibilidad más segura y eficiente para el control de los nematodos gastrointestinales de rumiantes en las praderas, cuyo desarrollo ha tenido un incremento notable en la última década, toda vez que se ha pasado de las observaciones y las experimentaciones en los laboratorios a los experimentos en campo.

El interés y el progreso en el desarrollo de estas estrategias han aproximado mucho la posibilidad de introducir el control biológico en el marco de un esquema integrado para reducir el uso de los antihelmínticos. Sin embargo, el gran potencial de esta alternativa de control parasitario dependerá, en un futuro, del interés comercial de la industria farmacéutica y de los precios, que deben ser competitivos con los medicamentos antihelmínticos disponibles en la actualidad.

## CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico se define como el uso de microorganismos vivos introducidos en un medio ambiente para el control de los parásitos gastrointestinales del ganado, reduciendo las poblaciones parasitarias a niveles que no produzcan problemas clínicos en los animales ni ocasionen pérdidas económicas en los sistemas de producción ganaderos. Una gama amplia de microorganismos se ha estudiado como potenciales agentes de control biológico de parásitos, entre los cuales se encuentran bacterias, hongos, protozoos, nematodos, artrópodos, escarabajos de heces de animales y lombrices de tierra.

El control biológico debe basarse en la utilización de agentes bióticos naturales de los agroecosistemas de Colombia, a partir de los cuales se puedan elaborar preparados comerciales, para evitar la introducción de microorganismos de otras latitudes que puedan competir con los autóctonos y producir desequilibrios ambientales y reducción de la eficacia para el control de endoparásitos. La selección de estos microorganismos para que puedan ser empleados comercialmente debe basarse en las siguientes características: a) buena capacidad de producción industrial del hongo, b)

competir comercialmente con los medicamentos disponibles en el mercado, en relación a costos de producción y tiempos de sobrevivencia del organismo en las formulaciones comerciales, c) ofrecer seguridad para productores, consumidores, animales tratados y el ambiente y d) ser efectivo en el control del organismo objetivo.

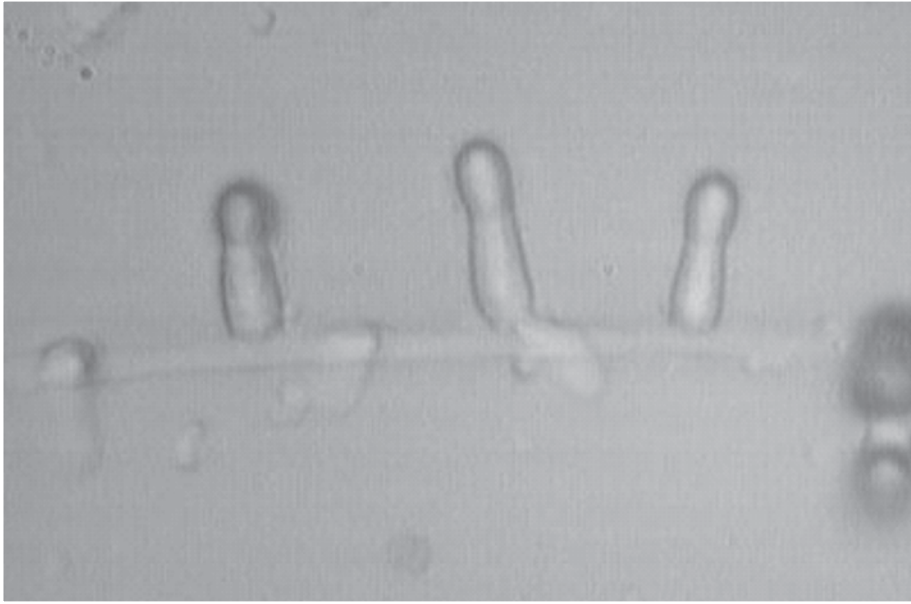
El objetivo del control biológico es profiláctico o preventivo, constituyéndose en la herramienta más promisoría en el futuro cercano para controlar, de manera sostenible, el parasitismo gastrointestinal de los bovinos, especialmente si se tienen cuenta, por un lado, los desarrollos logrados en la última década y, por otro, la desventaja que tiene el uso de productos químicos por la acumulación de residuos tóxicos en los productos de origen animal. Como herramienta no química de control, su empleo permitirá evitar o retardar la aparición de resistencia en las poblaciones parasitarias, siendo los hongos los organismos con que se ha continuado la exploración de esta herramienta de control.

### ***Hongos nematófagos***

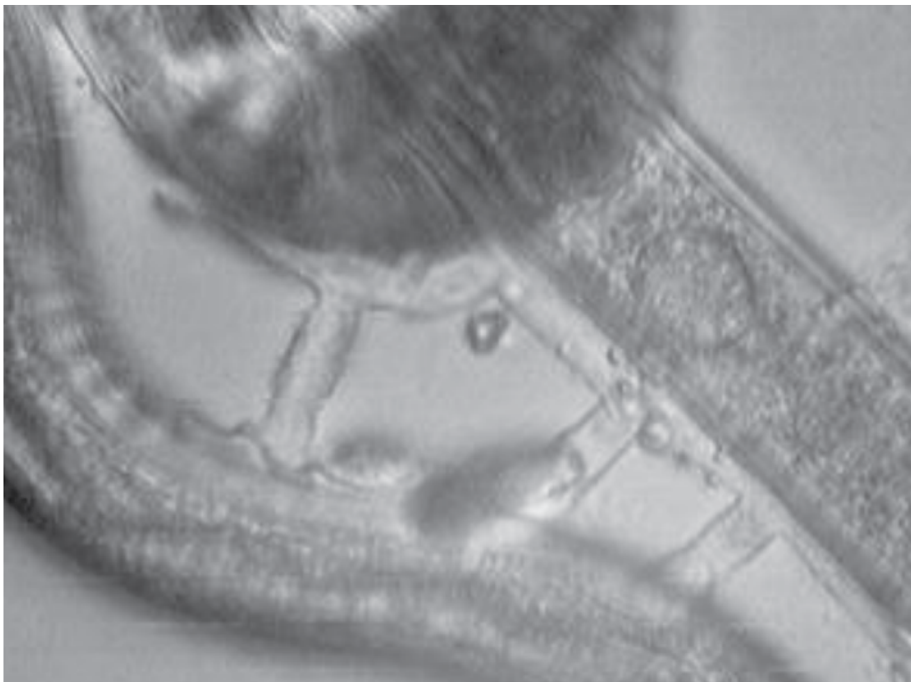
El descubrimiento de los hongos con habilidades para atrapar nematodos se inició en 1888, cuando se observó por primera vez que el hongo *Arthrobotys oligospora* infectaba a parásitos de plantas y animales. Los hongos nematófagos constituyen una variedad de microorganismos que se caracteriza porque atrapa, infecta y se alimenta de nematodos; son habitantes naturales del suelo y pueden aislarse de heces de animales, suelo y material vegetal en descomposición.

Estos microorganismos son taxonómicamente diferentes y tienen habilidades para atrapar nematodos y usarlos como nutrientes, lo que los ha hecho interesantes en el campo de la investigación de las herramientas de control alternativo de endoparásitos de rumiantes y otras especies. Dependiendo de su modo de infectar nematodos, se han agrupado en:

- a) Atrapadores de nematodos o predadores, que desarrollan sofisticadas estructuras hifales, como dedos adhesivos (foto 4a), redes, protuberancias, ramas, anillos constrictores y no constrictores (foto 5), con los que los nematodos son atrapados por adhesión o de forma mecánica (foto 4b). Entre los principales representantes de este grupo están: *Arthrobotis oligospora*, *A. conoides*, *A. musiformis* y *A. superba*.



**Foto 15.** Dedos adhesivos desarrollados como estructuras de atrapamiento de nematodos.



**Foto 16.** Larva infectiva de nematodo atrapado mediante dedos adhesivos.



**Foto 17.** Larva infectiva de nematodo atrapado por un hongo mediante anillos.

- b) Endoparásitos, que se caracterizan por atacar nematodos mediante esporas que pueden adherirse a la superficie de las larvas o ser ingeridas por éstas, como son los hongos *Catenaria auxiliaris* y *Lagenidium spp.*
- c) Parásitos de huevos y hembras que destruyen los huevos directamente por penetración e infección o indirectamente, causando disrupciones en las larvas o embriones contenidas en los huevos; el hongo parásito de huevo más conocido es *Paecilomyces lilacinus*.
- d) Hongos productores de toxinas, con la facultad de inmovilizar a sus víctimas a través de la formación de toxinas en las estructuras de sus hifas antes de la penetración; entre estos figura, por ejemplo, *Pleurotus ostreatus*.

Estos hongos presentan algunas ventajas que pueden ser aprovechadas para utilizarlos como agentes de control biológico. Entre éstas se destacan: i) tienen un ciclo de vida corto y alta capacidad reproductiva; ii) algunos son específicos, como los endoparásitos; iii) producen esporas de resistencia o quedan en fase saprofitica en ausencia de hospedadores; iv) no son

patógenos para los seres humanos, y v) reducen, en vez de eliminar, las poblaciones parasitarias, constituyéndose esto en un estímulo permanente de respuestas inmunológicas de los animales en contra de los parásitos. Sin embargo, es necesario identificar aquéllos que sean patógenos agresivos de los nematodos y capaces de identificar e infectar eficientemente a los organismos blanco.

Existen más de 200 especies de hongos atrapadores de nematodos, que pertenecen a distintos géneros como: *Arthrobotys*, *Dactylaria*, *Dactyella*, *Duddingtonia*, *Monacrosporium*, *Genicularia*, *Dactylariopsis* y *Harposporium*. Entre éstos se destaca *Duddingtonia flagrans* por ser el hongo que ha demostrado tener mayor habilidad para atrapar nematodos, ya que destruye larvas de parásitos tricostrongílicos en heces de animales y no sufre alteraciones luego de pasar a través del tracto gastrointestinal de los rumiantes. Esta característica se debe a su producción de esporas resistentes, que posteriormente germinan y se extienden por toda la materia fecal fresca para atrapar larvas en movimiento antes de que éstas migren a las pasturas. Este comportamiento pone de manifiesto el gran potencial de estos hongos para ser utilizados en formulaciones biológicas tendientes al control de endoparásitos del ganado.

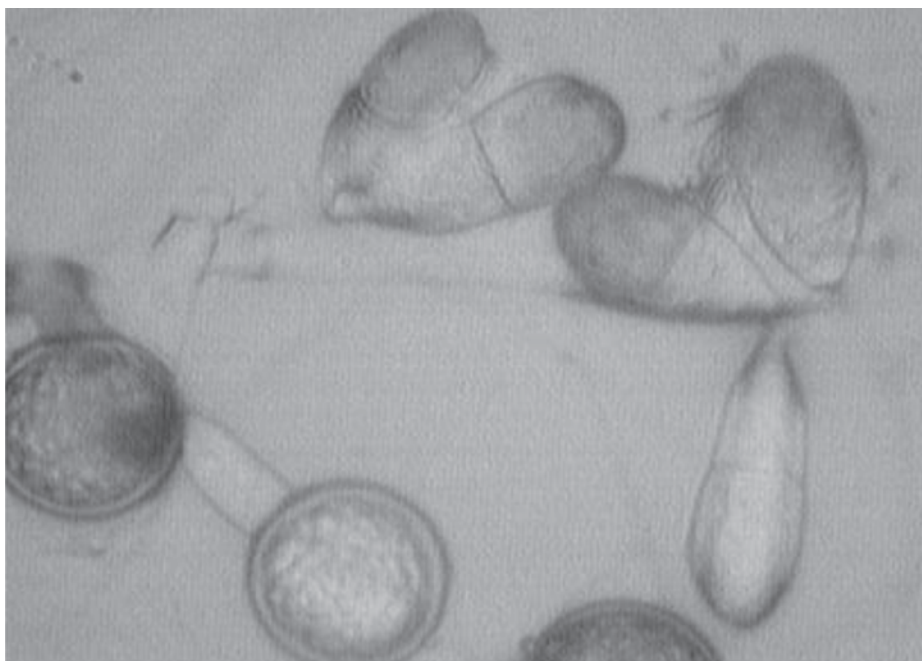


Foto 18. Clamidiospora y conidios de un hongo nematófago.

Una de las características de los hongos nematófagos usados como antagonistas naturales es que éstos no actúan sobre los estados parasíticos de los nematodos sino contra las formas libres (larvas L3) de éstos en el estiércol que se encuentra en las praderas, disminuyendo así la fuente de infección de los hospedadores sin ocasionar efectos negativos en el ambiente, situación que no ocurre con el uso de compuestos químicos. Aparte de estas habilidades nematófagas, los microorganismos que se utilicen como agentes de control biológico deben tener especificidad de acción, alta capacidad reproductiva y soportar las condiciones ambientales locales en las que se lleva a cabo el control.

En un futuro cercano, el control biológico, si se integra a otras estrategias, constituirá una importante herramienta por tener las ventajas siguientes: disminución del desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos, que es hoy uno de los principales agravantes del problema de los parásitos gastrointestinales en rumiantes; reducción de problemas sanitarios en la salud pública derivados de la ingestión de residuos medicamentosos a través de los productos de origen animal, en particular, de leche y/o carne; minimización de la ecotoxicidad, es decir, de la acción tóxica que muchos residuos antiparasitarios, como las avermectinas, tienen sobre una variedad de agentes vivos que actúan en el ambiente como controladores biológicos, y contribución a la prolongación de la vida útil de los compuestos químicos, que constituyen una herramienta para combinar en la estrategia del control integrado de parásitos.

Basados en los descubrimientos de las potencialidades de estos microorganismos, la actividad científica en los últimos diez años ha sido intensa en Dinamarca, Australia, México, así como en Brasil y Argentina, en Suramérica, y ha estado dirigida a explorar el potencial atrapador de nematodos que tienen algunos microhongos, como *D. flagrans*. Se han reportado aislamientos de *D. flagrans* en Australia, Canadá, Dinamarca, Estados Unidos, Francia, India, Inglaterra, Malasia, México y Rusia.

Los primeros estudios en que se utilizaron hongos como control biológico de parásitos gastrointestinales de animales se realizaron en Francia hace un siglo; en ellos se demostró la capacidad predadora de estos microorganismos sobre larvas infectantes de *Strongyloides papillosus* y *Bunostomum phlebotomum* en pruebas *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, el desarrollo farmacológico de los antihelmínticos de amplio espectro y de altos niveles de eficacia produjeron un estancamiento en esta línea de investigación; de no ser así, los desarrollos en este campo serían probablemente superiores en la actualidad.

En la actualidad, se están haciendo esfuerzos para reanudar la investigación en esta temática en diversas partes del mundo, como en México, país en el que se evaluaron dos cepas de *D. flagrans*, una mexicana y otra francesa, en un cultivo en harina de maíz agar con larvas *Panagrellus redivivus*; se observaron reducciones de larvas de 98,9% con la cepa mexicana y de 97,7% con la cepa francesa. En el mismo país se evaluó el porcentaje de reducción de larvas de *Haemonchus contortus* en pastos, mediante la administración oral de conidias de *Dactylaria sp.*, *Arthrobotis oligospora* y conidias de *D. flagrans* a ovejas, observándose que *D. flagrans* era el microorganismo con mayor habilidad para reducir larvas de nematodos de *H. contortus*.

Así mismo, en Francia se conocieron también reducciones de larvas de nematodos en praderas superiores al 90%, al evaluar *D. flagrans* en ovejas experimentalmente infectadas con *Trichostrongylus colubriformis* y *Teladorsagia circumcincta*. Resultados similares relacionados con esta habilidad del mismo hongo se han obtenido y reportado por parte de muchos investigadores en otros países.

En relación con el potencial reproductivo de *D. flagrans*, se ha reportado que la tasa de producción de esporas de este hongo, en temperaturas óptimas de 30 °C, es 700-800 trampas/cm<sup>2</sup> en dos días, cuando se les induce con 20 larvas L3 de nematodos por centímetro cuadrado en agar, informándose también que el número de esporas requeridas para el control adecuado depende de la especie animal. Así, por ejemplo, se menciona que dosis diarias de 10<sup>6</sup> clamidosporas de *D. flagrans* por kilogramo de peso en terneros redujeron significativamente las infestaciones en las praderas y, por lo tanto, los niveles de infección, mientras que otros informes señalan un control efectivo de larvas de *H. contortus* en heces de ovejas dosificadas diariamente con 2,5x10<sup>4</sup>-5,0x10<sup>5</sup> esporas/kg de peso. En este mismo sentido, se han observado reducciones por encima del 90% de larvas L3 de *H. contortus*, al emplear dosis de 1x10<sup>6</sup> clamidosporas de *D. flagrans* en ovejas, sugiriéndose el uso de este hongo como una alternativa promisorio de control biológico.

Son conocidos otros estudios en los que se informa que dosis de 2x10<sup>6</sup> esporas/kg de peso han reducido eficientemente la transmisión de larvas L3 de ciatostoma equina en pastos cercanos a las porciones fecales durante un año. Otras especies de hongos han demostrado buenas habilidades para el control de larvas de nematodos de parásitos gastrointestinales de rumiantes, pero con la desventaja, hasta ahora, de alterarse durante su paso por el tracto gastrointestinal de estos animales.

Hay que destacar que tanto en las especies bovinas como en las ovinas se han producido resultados interesantes al utilizar *D. flagrans*, a pesar de que en algunos trabajos con ovinos los resultados hayan sido bastante variables, sin que se den razones que expliquen esta situación; no obstante, se menciona que estas diferencias pueden estar relacionadas con la estructura material de los bolos fecales de estos rumiantes, que pueden secarse antes de que los hongos atrapen las larvas de los parásitos. A pesar de esto, algunos investigadores informan sobre los grandes beneficios obtenidos en ovinos cuando han empleado *D. flagrans* para el control de parásitos gastrointestinales.

Sin embargo, a pesar de las bondades que muestra *D. flagrans* para el control de endoparásitos, se plantean algunos retos que es necesario superar para que este hongo pueda ser utilizado ampliamente en el futuro: la comercialización, la producción de grandes cantidades de esporas a muy bajo costo, y la estabilidad para el mantenimiento de la viabilidad de las esporas durante su almacenamiento.

No obstante estos retos importantes, la contaminación ambiental, la resistencia a los antiparasitarios y la probable presencia de residuos químicos en los productos de origen animal, por el uso indiscriminado de compuestos químicos como única herramienta de control de los parásitos gastrointestinales, ponen en el orden del día el desarrollo de alternativas no químicas de control de endoparásitos mediante el uso de hongos, requiriéndose el aislamiento de cepas nativas y la evaluación posterior de su capacidad para reducir la contaminación de larvas infectivas de nematodos gastrointestinales en las pasturas.

Imperativos ambientales, sociales y de calidad e inocuidad alimenticia exigen una respuesta a estos problemas, haciendo, en definitiva, urgentes el desarrollo y la incorporación de alternativas al control convencional de parásitos, con énfasis en el control biológico.

#### *Impacto ambiental del uso de hongos nematófagos*

Si bien las intervenciones de los seres humanos en la naturaleza, a través de procesos, ocasionan impactos positivos o negativos en ella, la incursión que se ha hecho hasta el momento para desarrollar herramientas de control biológico de los nematodos gastrointestinales de rumiantes mediante el uso de hongos nematófagos, ha demostrado que estos microorganismos son inocuos para los animales, las plantas y el hombre, teniendo únicamente

actividad contra estos nematodos. Así lo han reportado durante más de 15 años las investigaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de México, en las que el uso de estos hongos ha resultado seguro.

De otro lado, en relación con el ecosistema, si bien los hongos nematófagos actúan también contra los nematodos de vida libre, en el suelo existe una fungistasis que pone límites considerables a las poblaciones de hongos en este hábitat. Así mismo, se ha reportado que los hongos tienen muchos enemigos naturales que luchan contra ellos, lo que conlleva una estabilización de las poblaciones de hongos. Es necesario resaltar que la forma de consumo (oral) de hongos por los animales para que luego sean eliminados directamente en las heces sin sufrir alteraciones, hace que estos microorganismos actúen en especial contra las formas larvarias de los nematodos gastrointestinales en el estiércol, convirtiendo a esta alternativa en una herramienta de control de endoparásitos amigable con el medio ambiente.

Finalmente, si se tienen en cuenta las demandas de los consumidores respecto a alimentos con menos residuos químicos, particularmente carne y leche, y producidos a través de procesos que ocasionen menos daño ambiental, uno de los impactos del desarrollo de estrategias de control biológico será en la salud pública en Colombia, en la medida en que el control biológico, con el empleo de bioplaguicidas, minimizará el uso de antihelmínticos en los esquemas de control de los parásitos internos de los rumiantes, obteniéndose, de esta manera, productos inocuos y de mayor calidad y respondiendo así a las exigencias actuales de los consumidores.

## CONCLUSIONES

Los requerimientos de los mercados en cuanto a la calidad de los alimentos, especialmente de los de origen animal, representan una presión fuerte para que se reduzca el uso de compuestos químicos para el incremento de la producción y para el control de los agentes patógenos y de las enfermedades ocasionadas por éstos, como es el caso de los nematodos gastrointestinales de los rumiantes.

El uso de compuestos químicos como única herramienta para el control de los parásitos, si bien revolucionó el control de estos agentes infecciosos, se tornó insostenible ambiental, económica y técnicamente, en particular por la presencia de residuos en los alimentos de origen animal y por la aparición de la resistencia a los antiparasitarios actualmente en uso.

Una de las estrategias actuales en desarrollo para lograr los propósitos de los cada vez más exigentes consumidores a nivel mundial es el control biológico, basado en el uso de hongos nematófagos.

El empleo de hongos nematófagos, integrado a otras estrategias de control parasitario, constituirá en el futuro una herramienta potente de control, con ventajas en términos de salud pública y de reducción de la ecotoxicidad.

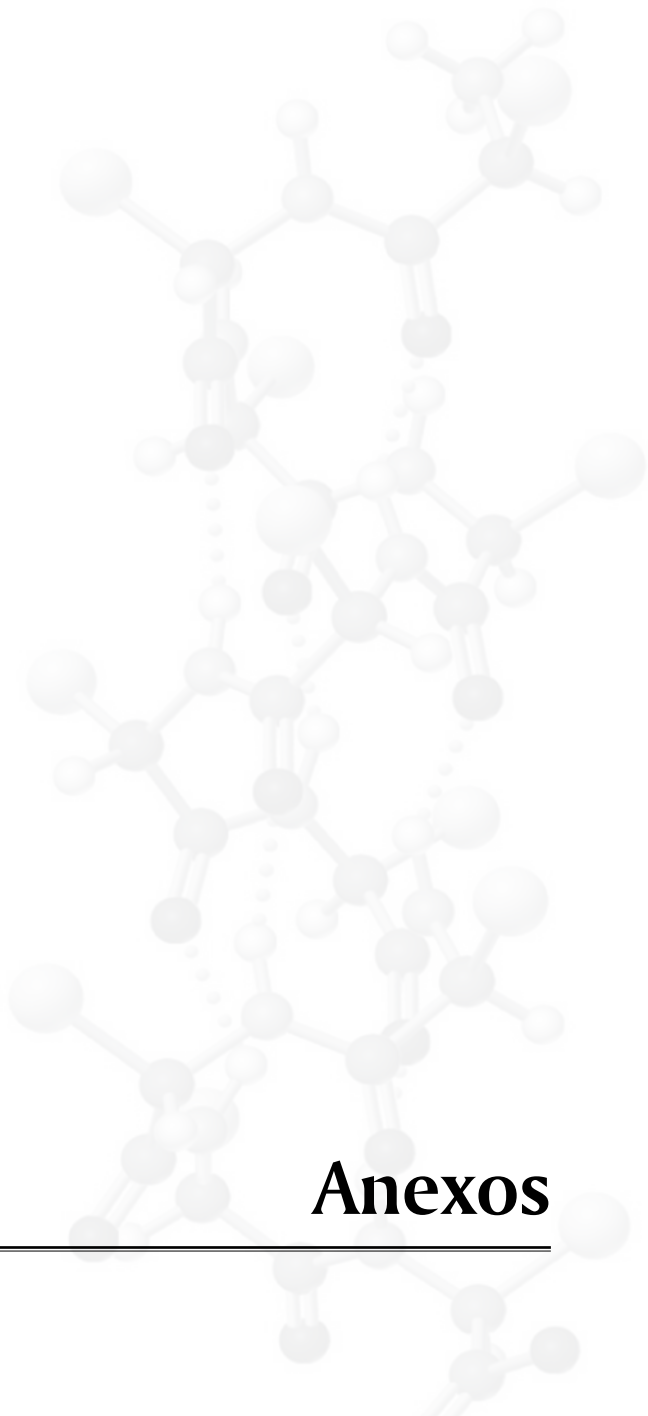
Los resultados halagadores de investigaciones realizadas en diferentes países del mundo ponen a esta estrategia como la alternativa más promisoría en el futuro para el control de los nematodos de rumiantes, desde una perspectiva ambiental y sostenible.

# Bibliografía

- Barron, G.L. 1977. The nematode-destroying fungi. Topics in Mycobiology N° 1. Canadian Biological Publications, Guelph, Ontario. 140 pp.
- Chandrawanthani, P., Jamnah, O., Waller, P., Høglund, J., Larsen y M. Zahari, W.M. 2002. Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Research* 33(6): 685-696.
- Chandrawathani, P., Jamnah, O., Waller, P., Larsen, M., Gillespie, A. y Zahari, W. 2003. Biological control of nematode parasites of small ruminants in Malaysia using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology* 117: 173-183.
- Chandrawathani, P., Jamnah, O., Adnan, M., Waller, P., Larsen, M. y Gillespie, A. 2004. Field studies on the biological control of nematode parasites of sheep in the tropics using the microfungus *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology* 120: 177-187.
- Chartier, C. y 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.
- Eysker, M., Bakker, N., Kooyman, F.N., Olde, S., 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: 312-320.
- Faedo, M., Larsen, M. y Waller, P.J. 1997. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: comparison between Australia isolates of *Arthrobotrys* spp. and *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology* 72: 149-155.
- Faessler, H., Torgerson, P.R., Hertzberg, H. 2007. Failure of *Duddingtonia flagrans* to reduce gastrointestinal nematode infections in dairy ewes. *Veterinary Parasitology* 147: 96-102.
- Flores, J., Herrera, D., Vásquez, V., Martínez, J. y Mendoza de Gives, P. 1999. Capacidad nematófaga de dos cepas del hongo *Duddingtonia flagrans* desarrollada en harina de maíz agar. *Vet. Méx.* 30(2): 199-203.
- Flores, J., Herrera, D., Mendoza de Gives, P., Liebano, E., Vasquez, V.M. y Lopez, M.E. 2003. The predatory capability of three nematophagous fungi in the control of *Haemonchus contortus* infective larvae in ovine faeces. *Journal of Helminthology* 77(4): 297-303.
- Fontenot, M., Miller, J., Peña, M., Larsen, M. y Gillespie, A. 2003. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamidospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. *Veterinary Parasitology* 118: 203-213.
- Gillespie, A. 2002. *Duddingtonia flagrans* for control of parasites in farm animals: a commercial perspective. pp. 41-43. En: Final proceedings of FAO Technical Co-operation Project in Malaysia [TCP/MAL/0065 (7)]. FAO Animal Production and Health paper.

- González, R., Mendoza de Gives, P., Torres, G., Becerril, C., Ortega, E., Hernández, O. 2005. Estudio in vitro de la capacidad depredadora de *Duddingtonia flagrans* contra larvas de nematodos gastrointestinales de ovinos de pelo. *Tec Pecu Méx* 43 (3): 405-414.
- Gronvold, J., Wolstrup, J., Henriksen, S.A., Larsen, M. y Bresciani, J. 1993a. Biological control of nematode parasites in cattle with nematode-trapping: a survey on Danish studies. *Veterinary Parasitology* 48(1-4): 311-325.
- Gronvold, J., Wolstrup, J., Larsen, M., Henriksen, A. y Nansen, P. 1993b. Biological control of *Ostertagia ostertagi* by feeding selected nematode-trapping fungi to calves. *Journal of Helminthology* 67: 31-36.
- Gronvold, J., Wolstrup, J., Nansen, P., Henriksen, S., Larsen, M. y Bresciani, J. 1993c. Biological control of nematode parasites in cattle with nematode-trapping fungi: a survey of Danish studies. *Veterinary Parasitology* 48(1-4): 311-325.
- Gronvold, J., Henriksen, A., Larsen, M., Nansen, P. y Wolstrup, J. 1996a. Aspects of biological with special reference to arthropods, protozoans, and helminthes of domesticated animals. *Veterinary Parasitology* 64: 47-64.
- Gronvold, J., Nansen, P., Henriksen, S., Larsen, M., Wolstrup, J., Bresciani, J., Rawat, H. y Fribert, L. 1996b. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamidospores production and growth rate in the nematode-trapping *Duddingtonia flagrans*. *Journal of Helminthology* 70: 291-297.
- Jansson, H. y López-Llorca, L. 2004. Control of nematodes fungi. En: Arora, D.K. (ed.). *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications*. National Bureau of Agricultural Important Microorganisms, New Delhi, India.
- Kahn, L.P., Norman, T.M., Walkden-Brown, S.W., Crampton, A., O'Connor, L.J. 2007. Trapping efficacy of *Duddingtonia flagrans* against *Haemonchus contortus* at temperatures existing at lambing in Australia. *Veterinary Parasitology* 146: 83-89.
- Larsen, M. 1999. Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology* 29: 139-146.
- Larsen, M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematode by predacious micro-fungi. *Parasitology* 120: 121-131.
- Mendoza de Gives, P., Flores, J., Herrera, D., Vásquez, V., Liebano, E. y Ontiveros, G.E. 1998. Biological control of *Haemonchus contortus* infective larvae in ovine faeces by administering an oral suspension of *Duddingtonia flagrans* chlamydo-spores to sheep. *Journal of Helminthology* 72: 343-347.
- Mendoza de Gives, P., Davies, K., Clark, S. y Behnke, J. 1999. Predatory behaviour of trapping fungi against srf mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. *Parasitology* 119: 95-104.
- Mendoza de Gives, S., Behnke, J. y Davies, K. 2003. Extracellular enzyme production by nematophagous fungi in the presence and absence of nematodes. *International Journal of Nematology* 13(1): 27-36.
- Mota, M., Leal, C.M. y Araújo, J.V. 2000. Atividade predatória dos fungos *Arthrobotys conoides* e *Monacrosporium thamasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. *Ciencia Animal* 10(1): 37-41.
- Mota, M., Campos, A.K. y Araújo, J.V. 2003. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesq. Vet. Bras.* 3(3): 93-100.

- Nordbring-Hertz, B., Jansson, H. y Tunlid, A. 2002. Nematophagous fungi. En: *Encyclopaedia of life sciences*. Macmillan Publishers Ltd., Nature Publishing Group. [www.els.net](http://www.els.net).
- Padilha, T. y Mendoza de Gives, P. 1996. Controle microbiano das formas de vida livre dos nematódeos trichostrongilídeos: uma alternativa para higienização das pastagens. En: *Controle dos nematódeos gastrointestinais em ruminantes*. EMBRAPA-CNPGL, Coronel Pacheco, Brasil. 258 p.
- Panchacharam, Ch., Hamnah, O., Waller, P., Hoglund, J., Larsen, M., y Zahari, W. 2002. Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Research* 33: 685-696.
- Peart, N. 2002. Evaluation of feeding chlamydospores of *Duddingtonia flagrans* to ewe/lamb pairs and weaned lambs to biologically control level of *Haemonchus contortus* on pasture. Tesis M.Sc. Louisiana State University. <http://etd02.lsu.edu/docs/available/etd-0902102-2212521>.
- Peña, M.T., Miller, J.E., Fontenot, M.E., Gillespie, A. y Larsen, M. 2002. Evaluation of *Duddingtonia flagrans* in reducing infective larvae of *Haemonchus contortus* in feces of sheep. *Veterinary Parasitology* 103: 259-265.
- Sandoval, J. y Sarmiento, S. 2000. Aislamiento, identificación y evaluación del potencial de actividad de hongos predadores como control biológico de nematodos gastrointestinales de rumiantes. Trabajo de grado. Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Saumell, C. y Fernández, A.S. 2000. Hongos nematófagos para el control biológico de nematodos parásitos de rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 81: 270-273.
- Saumell, C. 2002. Control mediante hongos nematófagos. En: *Reunión de Especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay*. 11° Encuentro de veterinarios endoparasitólogos rioplatenses. Mayo de 2002. Facultad de Ciencias Veterinarias, Tandil (B.A.), Argentina.
- Suárez, V. y Tawfik, E.S. 2000. Ecological and strategic endoparasite controlling in ruminants in tropical South America. <http://www.uni.kassel.de/fb11/ntier/victor1.html>.
- Thamsborg, S.M., Roepstorff, A. y Larsen, M. 1999. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Veterinary Parasitology* 84: 169-186.
- Skipp, R.A., Yeates, G.W., Chen, L.Y. y Glare, T.R. 2002. Occurrence, morphological characteristics and ribotyping of New Zealand isolates of *Duddingtonia flagrans*, a candidate for biocontrol of animal parasitic nematodes. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 45: 187-196.
- Waghorn, T., Leathwick, D., Chen, L. y Skipp, R. 2003. Efficacy of the nematode-trapping *Duddingtonia flagrans* against three species of gastrointestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. *Veterinary Parasitology* 118: 227-234.
- Waller, P.J. y Larsen, M. 1993. The role of nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. *International Journal of Parasitology* 23(4): 539-546.
- Waller, P.J. 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology* 29: 155-164.
- Waller, P. J. 2002. Global perspectives on nematode parasite control in ruminant livestock : the need to adopt alternatives to chemotherapy, with emphasis on biological control. *Animal Health Review* 4: 35-43.



**Anexos**

---



# Guía de procedimientos

## DETECCIÓN DE RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS EN RUMIANTES

Los siguientes protocolos están basados en las recomendaciones de la FAO (2004). Contiene los principales métodos para detección de la resistencia a los antihelmínticos en las poblaciones de nematodos gastrointestinales de rumiantes. Son pruebas simples y efectivas que pueden usarse en los laboratorios de parasitología veterinaria.

Se describen la prueba *in vivo* de la reducción del conteo de huevos fecales (RCH) y las pruebas *in vitro* de eclosión de huevos y de desarrollo larval. La primera provee un estimativo de la eficacia antihelmíntica por medio de la comparación del conteo de huevos de parásitos antes y después del tratamiento, y las otras dos prueban la habilidad de los antihelmínticos para inhibir la embrionación y la eclosión de huevos de nematodos colectados –prueba de eclosión de huevos–, así como el desarrollo larval –prueba de desarrollo larval.

### PRUEBAS *IN VIVO*

#### *a. Prueba de reducción del conteo de huevos fecales*

La realización de esta prueba implica un trabajo laborioso en cada establecimiento o finca. Se requieren cinco jornadas de trabajo: tres jornadas de campo en las fincas y dos en el laboratorio:

##### *Jornada 1: Primera visita a la finca*

- Si la prueba se hace con bovinos, se deben emplear animales jóvenes que estén bien identificados, preferiblemente menores de 12 meses de edad, por la mayor susceptibilidad de éstos a las infecciones parasitarias y, por lo tanto, por la mayor probabilidad de obtener recuentos altos de huevos en un gramo de materia fecal (hpg). Tener presente que los recuentos de hpg en bovinos son menores que en ovinos. Si los animales son ovinos, la edad de éstos debe estar entre 3 y 6 meses de edad.
- Los animales deben haber permanecido en pasturas contaminadas y que no haber sido tratados con antihelmínticos en las últimas 6 semanas antes del inicio del experimento.



Foto 19. Bovinos menores de seis meses de edad aptos para el ensayo.



Foto 20. Bovinos debidamente sujetos para la toma de muestras.

- Los animales deben sujetarse debidamente para facilitar la toma de muestras. El número de animales para muestrear dependerá del número de antihelmínticos que se va a evaluar. De todas maneras, si es posible, se debe tomar muestras al doble de los animales, con el fin de que todos los grupos estén constituidos por el número mínimo de animales.
- Las muestras de materia fecal (50-100 g en bovinos) se extraen directamente del recto de los animales para evitar su contaminación con nematodos de vida libre, utilizando bolsas de polietileno debidamente rotuladas con el número de identificación del animal y anudadas, luego de extraerles el aire.
- El mismo día deben transportarse las muestras refrigeradas al laboratorio y procesarlas posteriormente. Si las muestras tienen que almacenarse, debe hacerse a 4° C, evitando congelarlas, pues esto puede afectar la eclosión de huevos de *H. contortus*.



**Foto 21.** Toma de muestra de heces del recto de los animales.



**Foto 22.** Una vez tomadas las muestras, los animales deben retornar a sus parcelas.

- Los animales muestreados deben retornar a las pasturas donde habitualmente pastorean.
- Al final de la jornada se debe aplicar una encuesta que recoja información relacionada con el manejo de la finca, haciendo énfasis en la información relacionada con el control de parásitos practicado en ella.

### ***Jornada 2: Procesamiento de muestras en el laboratorio***

#### *Recuentos de hpg*

Para el recuento de hpg en el laboratorio se debe emplear la técnica de McMaster modificada:

1. Pese 3 g de materia fecal y deposítelos en un recipiente adecuado.
2. Agregue 42 mL de agua y mezcle bien con una espátula hasta obtener una suspensión homogénea.



**Foto 23.** Procesamiento de heces mediante la técnica de McMaster modificada.

3. Tamice a través de una malla metálica de 0,15 mm de apertura (anajo de cobre N° 100), exprimiendo bien con la espátula el residuo que queda en el tamiz. Descarte el residuo.
4. Agite la suspensión y con una pipeta transfiera 15 mL a un tubo de centrifuga de 17 mL.
5. Centrifugue a 1500 rpm durante 2 minutos y descarte el sobrenadante.
6. Agite el tubo con la yema de los dedos o con un vórtex hasta que afloje el sedimento.
7. Agregue solución salina hasta un volumen de 15 mL.
8. Invierta el tubo cinco o seis veces y tome inmediatamente con una pipeta material suficiente para llenar una cámara de McMaster. El llenado de las cámaras puede dificultarse si están secas, por lo que se recomienda lavarlas antes con agua corriente. Repita el proceso de inversión y llene la segunda cámara, teniendo siempre en cuenta que la pipeta debe llenarse estando la suspensión en agitación constante.

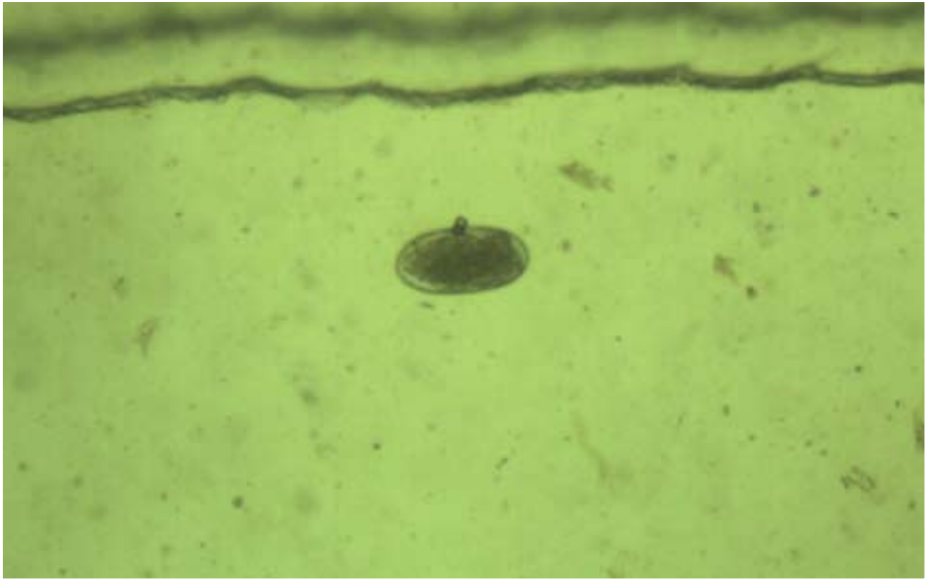


Foto 24. Huevo de nematodo gastrointestinal de bovinos.

9. Espere aproximadamente 3 minutos para que los huevos floten y queden en el mismo plano microscópico, antes de proceder al recuento.
10. Cuento todos los huevos que haya en las dos cámaras con objetivo 10X.
11. Multiplique el número de huevos por 50 para obtener el recuento total de hpg de la muestra (volumen total de la cámara de McMaster, 0,3 mL). Para una mayor sensibilidad cuente todos los huevos en cada cámara, lo que le da un volumen total de 1 mL, y multiplique por 15.

#### *Formación de grupos*

- Todos los animales que se seleccionen para conformar los grupos deben tener un recuento mínimo de 100 hpg, y el número de grupos va a depender del número de medicamentos destinados para evaluación. Si en el experimento se emplean ovinos, el recuento mínimo de hpg de cada animal debe ser 150.
- La conformación de los grupos se hace con base en el recuento de hpg en grupos control y tratado. Cada grupo debe estar compuesto mínimo por 10 animales, si se emplean bovinos en los ensayos; en caso de trabajar con ovinos los grupos deben estar conformados por 15 animales. Los grupos deben

homogenizarse con base en el recuento de hpg de la siguiente manera: a) verificar que haya más de 40 recuentos de hpg iguales o superiores a 100 para bovinos o a 150 para ovinos, b) sumar los datos de los recuentos y dividir por 4, si el objetivo es conformar 4 grupos. Si el resultado de la división es superior a 6000 hpg, quiere decir que el ensayo puede llevarse a cabo en esa finca; en caso contrario, la finca debe descartarse, pues no se cumple el requisito de que cada grupo tenga un recuento mínimo de hpg igual o superior a 1500.

- Para la conformación de los cuatro grupos, ordene todos los recuentos de hpg en forma ascendente en una hoja de Excel. Distribuya los recuentos en forma de 'guarda griega': los cuatro resultados más bajos, luego los 4 siguientes y así sucesivamente, hasta que todos los grupos queden conformados con el mismo número de recuentos y homogenizados, es decir, que al sumar los datos de cada grupo, los resultados sean similares.
- Lo ideal es conformar grupos de 15 animales; sin embargo, esto implica la consecución de fincas de gran tamaño, lo que dificulta la realización de los ensayos en el sistema de producción bovina de leche. Esta situación es relativamente fácil en fincas del sistema de producción de carne de Colombia y cuando se trabaja con ovinos.
- Una vez conformados los grupos, se asignan los tratamientos al azar, así, por ejemplo:
  - Grupo control: sin tratamiento
  - Grupo tratamiento 1: albendazol
  - Grupo tratamiento 2: ivermectina
  - Grupo tratamiento 3: levamisol
  - Grupo tratamiento 4: combinación de dos antihelmínticos

Con el objeto de facilitar estos procedimientos, la Red de Helminología para América Latina y el Caribe diseñó una planilla (apéndice de planillas).

### ***Jornada 3: Segunda visita a la finca***

#### ***Tratamiento de los grupos***

Si las circunstancias lo permiten, los animales para tratar deben ser estabulados el día anterior al tratamiento, con el fin de lograr un período de ayuno de por lo menos 12 horas hasta el momento de la vermifugación, si se emplean fármacos orales



Foto 25. Separación de los animales para la toma de muestras.

como los benzimidazoles. En la práctica, este tipo de manejo es bastante difícil de lograr en las fincas. Este día del tratamiento de los grupos se considera el día 0.

En esta jornada se debe:

- Indagar sobre los antihelmínticos que hayan sido de uso corriente en la finca y que potencialmente hayan seleccionado cepas resistentes.
- Usar antiparasitarios de marca reconocida, aplicando las dosis recomendadas por la casa fabricante. Todos los animales deben ser pesados para que reciban la dosis de acuerdo con su peso corporal. Si esto no puede hacerse y el ensayo es con fines diagnósticos, se debe evaluar el peso corporal del animal más pesado y administrar el antiparasitario a los animales con base en este peso. Si el experimento es de investigación, cada uno de los animales debe ser pesado en báscula. No debe usarse en ningún momento cinta métrica.
- Usar jeringas desechables para la administración de los medicamentos, pues esto permite realizar las dosificaciones con mayor precisión que con las pistolas dosificadoras. Sin embargo, si las pistolas están bien calibradas, pueden emplearse.

- La aplicación oral de antihelmínticos, como los benzimidazoles, debe hacerse procurando que los animales estén lo suficientemente sujetos para evitar pérdidas del medicamento y, por lo tanto, subdosificaciones; situación que conduciría a la obtención de resultados erróneos.
- Marcar con pintura o tiza indeleble a los animales que participan en la prueba, de tal manera que se conozca a qué grupo de tratamiento corresponde cada animal, si es que éstos no están adecuadamente identificados.
- Solicitarle al administrador de la finca que el encierro de los animales para la segunda y última toma de muestras de materia fecal se haga en el momento de la toma de muestras. De esta manera se evita que los animales vacíen el tubo digestivo y se obtienen las muestras sin dificultades.

Finalizados los tratamientos, los animales deben regresar a sus praderas de origen. Es necesario dejar definida y acordada la fecha de la próxima visita con el administrador de la finca, que debe practicarse a los 10-14 días de los tratamientos.



**Foto 26.** Tratamiento usando pistolas dosificadoras.



Foto 27. Tratamientos usando jeringas desechables.

#### ***Jornada 4: Tercera visita a la finca***

##### *Toma de muestras de materia fecal a los cuatro grupos*

- El día 10-14 postratamiento se practicará la tercera visita para la segunda y última toma de muestras de materia fecal a cada uno de los animales de los cuatro grupos. Las bolsas deben estar bien identificadas con el número de los animales; se transportan refrigeradas al laboratorio, sin aire en el interior y bien anudadas.
- Retornar los animales a sus praderas habituales, luego del muestreo.
- Informar al administrador que el ensayo ha concluido y que los resultados se le harán conocer.

#### ***Jornada 5: Segundo procesamiento de muestras en el laboratorio***

- Determinar el recuento de hpg de cada una de las muestras.

- Realizar los coprocultivos para la identificación de los géneros de parásitos que estén involucrados en la resistencia, si ésta estuviere presente en la finca. Los géneros y especies de nematodos resistentes pueden ser determinados mediante la técnica de coprocultivo de las heces de los grupos control y tratado, separadamente, así:
  1. Colecte cerca de 50 g de heces, combinando muestras de tamaño similar de cada animal en un grupo tratado.
  2. Mezcle las heces en un mortero con una espátula. Si la muestra está demasiado húmeda, adicione porciones de materia fecal seca previamente esterilizada.
  3. Llene recipientes de cultivo con la mezcla, cubriéndolos no herméticamente e incube durante 7 días a 22-28 °C.
  4. Retire los recipientes de la incubadora, añádales agua para suspender la muestra de heces y permitir la migración de las larvas. Invierta los recipientes sobre cajas de Petri y espere 4-8 horas.
  5. Colecte las larvas de las cajas de Petri llenando un tubo de ensayo de 15 mL con una pipeta Pasteur y centrifugue a 2.000 rpm durante 2 minutos.
  6. Descarte la mayor parte del sobrenadante, dejando 3 mL en el fondo del tubo.
  7. Coloque en una lámina portaobjetos 5 gotas del sobrenadante reservado. Añádales 2-3 gotas de lugol e identifique las larvas hasta contabilizar 100.

#### *Cálculo de la resistencia y análisis de los datos*

Se recomienda emplear la fórmula de la WAAVP, como se describe a continuación:

El procedimiento para el cálculo de la resistencia implica obtener el promedio aritmético ( $\bar{x}$ ), el porcentaje de reducción y el 95% del intervalo de confianza.

El porcentaje de reducción será:

$$100 (1 - X_t / X_c)$$



Foto 28. Coprocultivos en incubación.



Foto 29.  
Obtención de larvas  
de los coprocultivos.

Foto 30.  
Larvas preparadas  
para identificación  
morfológica.



En donde:

$X_t$  = media aritmética del grupo tratado a los 10-14 días

$X_c$  = media aritmética del grupo control a los 10-14 días

El cálculo del nivel para el intervalo de confianza (95%) será:

Límite de confianza superior:  $100 \{1 - [X_t / X_c] \exp(-2,1 \sqrt{Y^2})\}$

Límite de confianza inferior:  $100 \{1 - [X_t / X_c] \exp(+2,1 \sqrt{Y^2})\}$

En donde,  $X_t$  es la media aritmética del grupo tratado;  $X_c$  es la media aritmética del grupo control y  $Y$  es la varianza de la reducción.

De acuerdo con la WAAVP, una finca se declarará con resistencia si:

- a) La reducción en la media aritmética de hpg en el grupo tratado es menor de 95%, en comparación con el grupo control.
- b) El límite inferior del intervalo de 95% de confianza para el porcentaje de reducción es menor de 90%.

Cuando se cumple sólo uno de los anteriores criterios, se sospechará resistencia en la finca.

El análisis estadístico indica que si el verdadero porcentaje de reducción estimado es 95%, la probabilidad de declarar resistencia empleando sólo el primero de los dos criterios es de 50-50. Por ejemplo, empleando sólo el primer criterio, si el verdadero porcentaje de reducción es de 95%, la mitad de las veces la estimación puede llegar a ser un poco mayor, por lo que se llegará a diagnosticar susceptibilidad de la cepa al antihelmíntico, y la otra mitad de las veces la estimación será un poco menor, por lo que se declarará resistencia. Sin embargo, si se consideran ambos criterios, el diagnóstico de resistencia se efectuará con seguridad.

El análisis de los datos experimentales en pruebas realizadas en Australia indica que si ambos criterios se toman en cuenta, debe declararse la presencia de resistencia. Si se cumple uno solo de los dos criterios, entonces debe sospechase resistencia.

### ***b. Detección de resistencia en Fasciola hepatica***

La prueba para detectar resistencia de *F. hepatica* puede desarrollarse mediante:

- Prueba de la reducción del conteo de huevos fecales.
- Prueba de eficacia, la cual puede llevarse a cabo con o sin aislamientos de cepas resistentes.

#### *Prueba de la reducción del conteo de huevos fecales*

- Se deben formar dos o tres grupos de 6-10 animales por grupo: un grupo control no tratado y otro tratado con el medicamento que se va a evaluar.
- Si existe en la finca un número suficiente de animales infectados, se puede conformar un tercer grupo para evaluar el closantel, por los casos frecuentes de resistencia de *F. hepatica* al triclabendazol.
- Las muestras deben colectarse el día del tratamiento (día 0) y 7 días después del tratamiento. Es válido también realizar el experimento con muestras fecales tomadas entre los días 7 y 21 postratamiento.
- El porcentaje de eficacia (PE%) se determina empleando la siguiente fórmula:

$$PE\% = [(MC - MT) / MC] \times 100$$

En donde, MC es el promedio del conteo de huevos el día 0 y MT es el promedio de huevos los días 7, 10 ó 21. Se considera que hay resistencia cuando el PE% es menor de 90%.

Por los valores extremos del hpg se prefiere el uso del promedio geométrico sobre el promedio aritmético.

#### *Prueba de eficacia controlada*

Esta prueba es de poco uso por ser muy costosa debido al alto número de animales que se requiere para sacrificar y necropsiar; sin embargo, es la ideal para detectar de manera inequívoca estados de resistencia a través de la evaluación *post-mortem* de animales tratados y no tratados, permitiendo determinar con exactitud las especies y los estados de desarrollo de los parásitos, así como la susceptibilidad o la resistencia a los compuestos que se quieran ensayar. Se usa en los siguientes casos especiales:

- a) Para confirmar casos no consistentes de resistencia, en particular, con el uso de la RCH.
- b) Para evaluar el nivel de resistencia en una especie particular.
- c) Para determinar el efecto de un antihelmíntico en estadios larvales.

La eficacia de los antihelmínticos se determina comparando el número de parásitos en animales de un grupo tratado y de otro no tratado. Los animales parasitados se distribuyen aleatoriamente en dos grupos: el grupo de control no tratado y el grupo tratado. A los 10-15 días postratamiento, los animales se sacrifican y se les practica la necropsia para recuperar, contar e identificar los parásitos.

El procedimiento de la prueba de eficacia es el siguiente:

- Seleccionar al azar cinco animales de todos los grupos de animales empleados en la prueba RCH, para determinar la carga parasitaria de los grupos.
- Sacrificar y realizar la necropsia parasitológica lo más completa posible, de acuerdo con los procedimientos estándares.
- Procesar todas las vísceras para la recuperación completa de los parásitos, en una hora de necropsia.
- Contar e identificar en el laboratorio los parásitos recuperados.

#### *Cálculo de la eficacia y análisis de los datos*

Se debe calcular el promedio aritmético para cada especie de nematodo en cada uno de los grupos, para expresar la eficacia en porcentaje para cada especie de parásito, empleando la siguiente fórmula:

$$PE\% = [(MC - MT) / MC] \times 100$$

En donde, MC es el promedio del conteo de huevos el día 0 y MT es el promedio de huevos los días 7, 10 ó 21.

Si el PE% es menor de 90%, se considera que hay resistencia.

## PRUEBAS *IN VITRO*

### a. Prueba de eclosión de huevos

#### *Protocolo 1. Recuperación de huevos de nematodos*

- Colocar 10-20 g de materia fecal en un cilindro plástico graduado de 1000 mL, añadir 200 mL de agua destilada y homogenizar las heces.
- Tamizar a través de una malla N° 100 (0,15 mm de apertura) en una taza. Vertir el filtrado en ocho tubos de centrifuga.
- Centrifugar durante 10 minutos a 2000 rpm y sacar cuidadosamente el sobrenadante.
- Agitar los tubos y adicionar una solución de cloruro de sodio saturada o una solución azucarada saturada hasta formar un menisco; colocar una cubierta y centrifugar nuevamente durante 5 minutos a 1000 rpm en una centrífuga.
- Retirar con cuidado la cubierta de los tubos y lavar los huevos con agua destilada en un tubo de vidrio de centrifuga cónico. Llenar con agua destilada y centrifugar nuevamente durante 5 minutos a 1000 rpm. Esta etapa es para limpiar los huevos aislados de la solución azucarada o de cloruro de sodio.
- Sifonear el sobrenadante y los huevos resultantes, limpios y libres de detritus, suspenderlos en agua destilada y estimar el número de huevos por mililitro, diluyendo a la concentración requerida.

#### *Metodología de la prueba*

- Colocar 2 mL de huevos frescos (a menos de 3 horas recolectados) en cada pozo de una placa multipozo.
- Adicionar al pozo experimental 10  $\mu$ L de solución de tiabendazol. El pozo control sólo recibirá solvente. El tiabendazol puede disolverse en HCl acuoso, metanol o DMSO. Por lo menos cinco concentraciones de tiabendazol (entre 0,05 y 2  $\mu$ g/mL) se usarán para calcular la dosis requerida para impedir la eclosión de 50% de los huevos viables ( $DL_{50}$ ).
- Incubar a 28 °C durante 48 horas.

- Adicionar dos gotas de lugol. Contar por lo menos 100 de los huevos restantes (muertos y embrionados) y larvas eclosionadas. Calcular los valores de la  $DL_{50}$  para los huevos, por logaritmo de análisis probit. Los huevos con valores de  $DL_{50}$  superiores a 0,1  $\mu\text{g}$  de tiabendazol son indicativos de resistencia a los benzimidazoles.

### *Desventajas de la prueba*

- La prueba requiere huevos no desarrollados porque los benzimidazoles actúan sólo en la primera etapa de desarrollo; si los huevos han embrionado antes, entonces no serán susceptibles a la acción del antihelmíntico, con lo que pueden resultar falsos positivos.
- La prueba no permite hacer comparaciones de los resultados entre laboratorios, por las modificaciones de que son objeto estas pruebas y además por el empleo de cepas susceptibles diferentes.
- El poder ovicida reducido de los benzimidazoles por la baja solubilidad de éstos, excepto el tiabendazol.
- En la mayoría de los laboratorios se contabiliza solamente el número de larvas y no el de los huevos embrionados, método que puede conducir a resultados erróneos. Esta práctica se emplea en aras de una rapidez mayor para obtener los resultados.

Tiene la ventaja de ser una prueba rápida, con resultados en 1-3 días y es sencilla, no obstante la precisión requerida. La prueba requiere huevos frescos o muy bien almacenados. Es una prueba que se emplea para diagnóstico de resistencia en campo, aunque tiene dificultades en la interpretación de los resultados en presencia de infecciones mixtas.

### *Protocolo 2*

El siguiente protocolo fue desarrollado en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Argentina, en un estudio de prevalencia de la resistencia antihelmíntica en bovinos en ese país.

### *Recuperación de huevos de nematodos*

- Determinar la cantidad de huevos presentes en un gramo de materia fecal (hpg), con base en el promedio de 10 muestras procesadas.

- Calcular la cantidad de materia fecal necesaria para obtener una determinada cantidad de huevos en un volumen final de 10 mL.
- Diluir 20 veces cada gramo de materia fecal. Por ejemplo, si se procesan 5 g de materia fecal, diluirlos en 100 mL.
- Filtrar sucesivamente esta dilución en los tamices siguientes: de 60 mesh (250  $\mu\text{m}$  de apertura del poro), de 80 mesh (177  $\mu\text{m}$ ), de 200 mesh (74  $\mu\text{m}$ ) y de 500 mesh (25  $\mu\text{m}$ ). Por el último tamiz debe pasar sólo el líquido, quedando retenidos los huevos.
- Enjuagar el tamiz recolectando el líquido (en éste estarán los huevos).
- Si el volumen que contiene los huevos es mucho, debe dejarse sedimentar en nevera durante una hora para luego sifonear y descartar el sobrenadante.
- Llenar tantos tubos de centrífuga como sea necesario y centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos.
- Descartar el sobrenadante, agregar un poco de solución sobresaturada de azúcar, tapar el tubo y agitarlo para romper el sedimento formado.
- Llenar el tubo con solución sobresaturada de azúcar y centrifugar a 1000 rpm durante 5 minutos
- Completar el tubo inyectando solución sobresaturada hasta formar un menisco de convexidad. Colocar una lámina cubreobjeto (idealmente de 22 x 32 mm; si no, la cuadrada de 32 mm) y dejar durante 15 minutos.
- Enjuagar las láminas cubreobjetos y reunir el líquido en uno o dos tubos de centrífuga. Centrifugar nuevamente a 1000 rpm durante 5 minutos. Sifonear y descartar sobrenadante hasta quedar con un volumen de 10 mL.
- Contar los huevos recolectados en diez muestras de 40  $\mu\text{L}$ . Obtener el promedio y calcular con base en lo que habría en 10 mL.

### *Preparación de las diluciones*

Se preparan seis diluciones de trabajo: una con agua destilada (control) y las restantes con concentraciones de tiabendazol (TBZ) diluidas con agua destilada de la siguiente manera:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f$$

$$V_i = \frac{V_f \times C_f}{C_i}$$

En donde,  $V_i$  es el volumen inicial;  $C_i$ , la concentración inicial de la droga;  $V_f$ , el volumen final (la cantidad de solución que se quiere obtener de una determinada concentración de droga) y  $C_f$ , la concentración final de la droga que se utiliza para preparar el resto de las concentraciones.

Concentración TBZ	Volumen
200 µg/mL	10 mL
150 µg/mL	10 mL (7,5 mL de 200 µg/mL + 2,5 mL de agua destilada)
100 µg/mL	10 mL (5,0 mL de 200 µg/mL + 5,0 mL de agua destilada)
50 µg/mL	10 mL (2,5 mL de 200 µg/mL + 7,5 mL de agua destilada)
25 µg/mL	10 mL (1,25 mL de 200 µg/mL + 8,75 mL de agua destilada)

#### *Cálculo de las diluciones finales*

El numerador es el volumen de la dilución de trabajo y el denominador es el volumen total del líquido (volumen de la solución de huevos + volumen de la dilución de trabajo) que se va a examinar en lupa estereoscópica a 50x.

$$\frac{40 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \times 25 \mu\text{g/mL} = 12,5 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{40 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \times 50 \mu\text{g/mL} = 25 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{40 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \times 100 \mu\text{g/mL} = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{40 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \times 150 \mu\text{g/mL} = 75 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{40 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \times 200 \mu\text{g/mL} = 100 \mu\text{g/mL}$$

### *Cálculo del porcentaje de eclosión*

Pasadas 48 horas de incubación de los huevos con las distintas diluciones de TBZ, se procede a la determinación del porcentaje de eclosión larval (L1, larva del primer estadio), empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de eclosión} = (L1 / L1 + \text{huevos}) \times 100$$

La limitante que tiene la realización de esta prueba son las condiciones de envío y el tiempo que transcurre desde que se toma la muestra hasta que se procesa en el laboratorio, ya que la acción del tiabendazol está en función del grado de desarrollo de los huevos, es decir, que si los huevos están desarrollados con larvas, la acción del benzimidazol disminuye; para que el compuesto sea efectivo, se requieren huevos morulados pero sin desarrollarse. Por lo tanto, un requisito clave de esta técnica es que el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su procesamiento no supere las 72 horas, además de que llegue refrigerada a 4° C y en anaerobiosis.

De otro lado, se considera que la parte clave de esta técnica es la obtención del número mínimo necesario para poder desarrollar la prueba: 25.000 huevos de nematodos en un volumen de 10 mL, que equivalen a una concentración aproximada de 100 huevos en 40  $\mu$ L de suspensión de agua. Así mismo, para determinar el número mínimo de huevos es necesario que se procesen 10 hpg, calcular el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación. La obtención de estos tres parámetros permitirá saber si existe la cantidad mínima de huevos en la materia fecal que se está procesando y calcular los gramos de materia fecal necesarias par obtener los huevos requeridos (100 huevos / 40  $\mu$ L de agua).

### ***b. Prueba de desarrollo larval***

#### *Recuperación de huevos de nematodos*

Se usa la misma metodología descrita arriba para la prueba de eclosión de huevos.

#### *Metodología de la prueba*

Las soluciones de levamisol e ivermectina se preparan por dilución en agua destilada de las preparaciones comerciales disponibles.

- Las concentraciones finales de tiabendazol serán 0.1, 0.3 y 0.5  $\mu$ g/mL.

- Las concentraciones de levimasol serán 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 y 20.0  $\mu\text{g/mL}$ .
- Las concentraciones finales de ivermectina serán 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0, 3.0, 5.0, 8.0, 10.0, 50.0 y 100.0 ng/mL.
- Incubar la suspensión de huevos de nematodos durante 24 horas a 27 °C. Después de este tiempo la mayoría de los huevos de nematodos habrán eclosionado hasta el primer estado larval (L1).
- Tomar 1 mL de la suspensión de huevos y vertirlo en el plato de agar, adicionar 0,99 mL de medio nutritivo y 10  $\mu\text{L}$  de la solución antihelmíntica, hasta obtener un volumen final de 2 mL, permitiendo el desarrollo óptimo en una capa poco profunda de agua.
- En el plato control sustituir la solución antihelmíntica por agua destilada.
- Incubar los platos a 27 °C durante 6 días en una caja de Petri grande, sellada con parafilm para mantener una humedad relativa alta y prevenir la sequedad de los platos.
- Recuperar las larvas por medio de un lavado de la superficie del agar en un tubo de centrifuga cónico a 95 g durante dos minutos.
- Sifonear el sobrenadante y resuspenda las larvas en agua destilada.
- Recuperar larvas del tercer estado (L3), contarlas e identificarlas agregando gotas de lugol.

# Apéndice de planillas

## PLANILLA DE PRIMER MUESTREO\*

Establecimiento:						Encargado:					
Propietario:											
Fecha:						Médico veterinario:					
Nº	Animal	Peso	1 <sup>er</sup> hpg	Nº	Animal	Peso	1 <sup>er</sup> hpg	Nº	Animal	Peso	1 <sup>er</sup> hpg
1				35				69			
2				36				70			
3				37				71			
4				38				72			
5				39				73			
6				40				74			
7				41				75			
8				42				76			
9				43				77			
10				44				78			
11				45				79			
12				46				80			
13				47				81			
14				48				82			
15				49				83			
16				50				84			
17				51				85			
18				52				86			
19				53				87			
20				54				88			
21				55				89			
22				56				90			
23				57				91			
24				58				92			
25				59				93			
26				60				94			
27				61				95			
28				62				96			
29				63				97			
30				64				98			
31				65				99			
32				66				100			

\* Fuente: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina

## PLANILLA DE TRATAMIENTO

<b>Establecimiento:</b>				<b>Encargado:</b>			
<b>Propietario:</b>							
<b>Fecha:</b>				<b>Médico veterinario:</b>			
<b>Grupo 1: Control no tratado</b>				<b>Grupo 2: Levamisol</b>			
Animal	Peso	hpg	Dosis	Animal	Peso	hpg	Dosis
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
			Ninguna				
<b>Grupo 3: Fenbendazol</b>				<b>Grupo 4: Ivermectina</b>			
Animal	Peso	hpg	Dosis	Animal	Peso	hpg	Dosis



**RESULTADOS DE CULTIVO SEGUNDO MUESTREO**  
(Materia fecal extraída 14 días post-tratamiento)

<b>Parásito</b>	<b>% Grupo 1</b>	<b>% Grupo 2</b>	<b>% Grupo 3</b>	<b>% Grupo 4</b>
<i>Ostertagia</i>				
<i>Trichostrongylus</i>				
<i>Haemonchus</i>				
<i>Cooperia</i>				

Grupo 1: control no tratado; Grupo 2: levamisol; Grupo 3: fenbendazol y Grupo 4: ivermectina

**PLANILLA DE RESULTADOS DEL TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (TRCH)**

<b>Establecimiento:</b>		<b>Propietario:</b>			
<b>Encargado:</b>					
	<b>G1 Control</b>	<b>G2 LEV</b>	<b>G3 BZD</b>	<b>G4 IVM</b>	
Número en grupo (ni)	15	15	15	15	
Media aritmética (X)	263	0	0	0	
Varianza (S <sup>2</sup> )	64095,238	0	0	0	
Porcentaje reducción (% RCH)	No	100,0	100,0	100,0	
Varianza de la reducción		#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	
Límite inferior del IC 95%		#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	
Límite superior del IC 95%		#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	
Susceptible	Resistente				
<p>Cuando la reducción es del 100% aparecen en las celdas de varianza y de intervalo de confianza la expresión #¡DIV/0!, que no hay que tener en cuenta.</p> <p>¿Cuándo se diagnostica resistencia?          Cuando se cumplen dos parámetros <i>al mismo tiempo</i>: 1) el porcentaje de reducción (% RCH) es menor al 95% y 2) el límite inferior del intervalo de confianza (IC) del 95% es menor al 90%.</p> <p>Si en un grupo tratado se obtiene un valor de hpg alto solamente en uno o dos animales, es probable que no hayan recibido o absorbido correctamente la droga administrada. En estos casos, es aconsejable asignar a esos animales el valor de hpg que más veces se repita en el grupo (incluyendo el cero) ya que no será posible repetir el experimento.</p>					

G2 LEV, grupo del levamisol/morantel; G3 BZD, grupo del benzimidazol; G4 IVM, grupo de la ivermectina

IC: intervalo de confianza.

Tomada de Wolstenholme *et al.*, 2004.



Terminó de imprimirse  
en Octubre de 2007 en



Tel: 2885338, Bogotá, DC