

# Resistencia antihelmíntica en los Nemátodos Gastrointestinales del bovino

Patricia Torres Vásquez \* / Germán Alonso Prada Sanmiguel \*\* / Dildo Márquez Lara \*\*\*

## RESUMEN

Los nemátodos gastrointestinales (NGI) en los animales domésticos, especialmente en los bovinos, son un factor muy importante que afecta su productividad ya que los sistemas de producción ganaderos han intervenido en la relación de los parásitos gastrointestinales (PGI) con los hospederos, lo cual ha llevado a que se rompa el equilibrio ecológico entre ambos. Esto se debe a que en muchas ocasiones se ha favorecido el desarrollo de las poblaciones parasitarias o en otras se ha tratado de llevar a la extinción de una población parasitaria, lo cual ha generado que dichas poblaciones expresen genes que en condiciones normales no expresarían, favoreciendo con esto el desarrollo de resistencia frente a los medicamentos que están destinados a su destrucción. Los NGI son de gran importancia en todas las explotaciones pecuarias, pero su manejo inadecuado, sobretodo al que se refiere a la parte farmacológica, ha llevado al desarrollo de resistencia antihelmíntica por parte de

algunas poblaciones parasitarias. En esta revisión se determinará la importancia de la resistencia antihelmíntica en las explotaciones ganaderas, como un factor de riesgo para el control de poblaciones parasitarias. Los grupos antihelmínticos más utilizados en bovinos corresponden a los Benzimidazoles, Levamisol e Ivermectina y en estos se ha reportado resistencia de parte de poblaciones parasitarias como son *Haemochus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Ostertagia circumcincta*, *Ostertagia ostertagi*.

Se determinaron los diferentes factores de riesgo en donde se clasificaron en extrínsecos (No dependen del parásito gastrointestinal) e intrínsecos (dependen directamente de los parásitos gastrointestinales ligado directamente con la genética) los cuales ocupan una gran importancia en el desarrollo de la resistencia antihelmíntica.

**Palabras clave:** resistencia, antihelmínticos, parásitos gastrointestinales, bovinos.

\* Médico Veterinario Universidad de La Salle. Correo electrónico: mypatova@yahoo.es

\*\* Médico Veterinario, Universidad Nacional de Colombia, Magíster Universidad Austral de Chile, Profesor: Facultad Medicina Veterinaria de la Universidad de La Clínica Grandes Animales de la Salle.

\*\*\* Médico Veterinario Universidad Nacional de Colombia, Profesor Facultad Medicina Veterinaria Universidad de La Salle en Parasitología General, Esp. Programa de Salud Corpoica – Ceisa.

Fecha de Recepción: 16 de noviembre de 2006

Fecha de Aprobación: 15 de febrero de 2007

## **ANTHELMINTIC RESISTANCE FOR GASTROINTESTINAL BOVINE NEMATODES**

### **ABSTRACT**

The gastrointestinal nematodes (GIN), in domestic animals, especially in bovines are a very important factor that affects their productivity, because cattle production systems have intervened in the relationship between gastrointestinal parasites (PGI) and the host, breaking therefore the ecological balance between them. In many opportunities the development of parasitic populations have been favored or a parasitic population have been led to extinction, it has made that these populations express genes that would not express under normal conditions, favoring thus, resistance to medications that were made to their destruction. NGI are highly important in all cattle exploitations, but their inappropriate handling, mainly in the pharmacological aspect, has created vermifuge resistance by some parasitic populations. This article will determine the importance of the vermifuge resistance in cattle exploitations, as a factor

of risk for the control of parasitic populations. The most important antihelmintic groups used in bovine are Benzimidazoles, Levamisol and Ivermectine and with these products resistance has been reported by parasitic populations such as in *Haemochus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Ostertagia circumcicta*, *Ostertagia ostertagi*.

Different risk factors were classified in extrinsic (which don't depend on the gastrointestinal parasite) and intrinsic (which depend directly on gastrointestinal parasites related with genetics) which occupy a great importance in the development of the vermifuge resistance.

**Key words:** resistance, vermifuge, gastrointestinal parasites, bovine.

## INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antihelmínticos en la ganadería bovina es uno de los problemas con mas incidencia, ya que el uso inadecuado de estos productos químicos ha ocasionado serias pérdidas económicas (debido a tratamientos y honorarios profesionales) y baja productividad en los animales. El desarrollo de la resistencia está influenciado por factores del clima, prácticas de manejo y edad de los animales que son tratados. Los productores tradicionalmente usan un solo producto químico durante tiempos prolongados, subdosificados o varios productos con intervalos de tiempo muy cortos para el control de endoparásitos gastrointestinales, estrategia que puede ser ineficiente ya que carece de un criterio técnico, y concede al parásito en mención una ventaja, ya que puede no ser atacado en forma eficiente y puede en cambio exponérsele a dosis muy bajas que no lo matan pero si le permiten desarrollar resistencia al producto.

La resistencia a los diferentes productos químicos se ve afectada por factores genéticos, reproductivos,

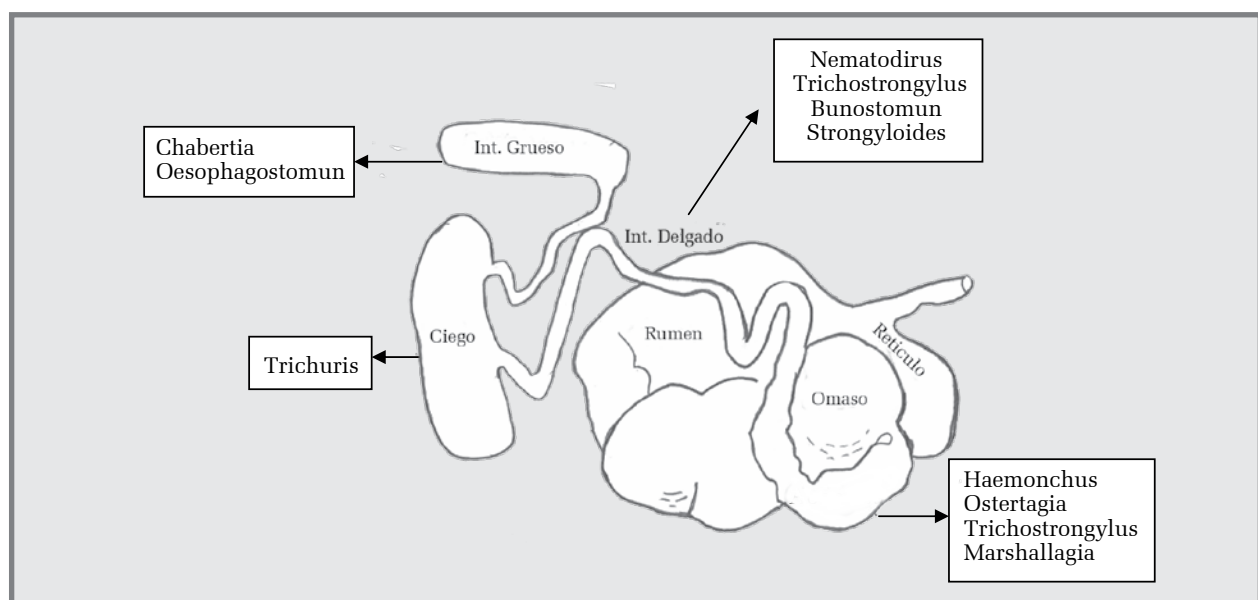
ecológicos, de comportamiento, y operacionales, los cuales afectan de forma directa a la población parasitaria. En la presente revisión bibliográfica se profundizará en los diferentes procesos de desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos así como las técnicas de detección de dicha resistencia.

## PARÁSITOS GASTROINTESTINALES

Los parásitos gastrointestinales se encuentran localizados por todo el tracto gastrointestinal de los rumiantes como puede apreciarse en la gráfica 1, siendo los más comunes:

**Cooperia spp:** estos Nemátodos infectan el intestino delgado de los bovinos. Existen varias especies: *C. Oncophora*, *C. punctata* y *C. pectinata*, siendo estas dos últimas las que predominan en las zonas tropicales y están asociadas a cuadros de gastroenteritis en los terneros. Los daños sobre el intestino delgado incluye pérdida de las vellosidades intestinales, respuesta inflamatoria intensa y pérdida de proteínas plasmáticas (Márquez <sup>a</sup>, 2003).

**GRÁFICA 1. LOCALIZACIÓN EN EL APARATO DIGESTIVO EN LOS BOVINOS, DE LOS GÉNEROS DE NEMÁTODOS QUE INTERVIENEN EN LOS RUMIANTES.**



**Haemonchus spp:** es uno de los más importantes por su capacidad hematófaga debido a su alto potencial reproductivo, desarrollándose grandes cargas parasitarias que se pueden incrementar en las épocas secas y calurosas, pudiendo llevar a la muerte de los animales. Causa daños severos en la mucosa abomasal originando anemia, disturbios en la digestión, hipoproteinemia y diarrea (Márquez, 2003).

**Ostertagia spp:** es un parásito común en todas las regiones del mundo y más en lugares de lluvias, estas son adecuadas para su transmisión y supervivencia, es de los pocos parásitos que afecta a jóvenes y adultos. La adquisición de resistencia frente a la infección por parte del parásito, requiere de un periodo de tiempo más largo en comparación con la resistencia adquirida frente a los otros grupos de parásitos.

La ostertagiosis es causada por *Ostertagia spp*, la cual presenta dos tipos:

La ostertagiosis Tipo I: se presenta en animales jóvenes destetos y no destetos cuando son introducidos por primera vez en praderas altamente contaminadas, con larvas infectantes L3, se caracteriza por alta morbilidad y baja mortalidad. La ostertagiosis tipo II: Se origina por la reanudación del desarrollo de las larvas L4 inhibidas (hipobiosis), como respuesta

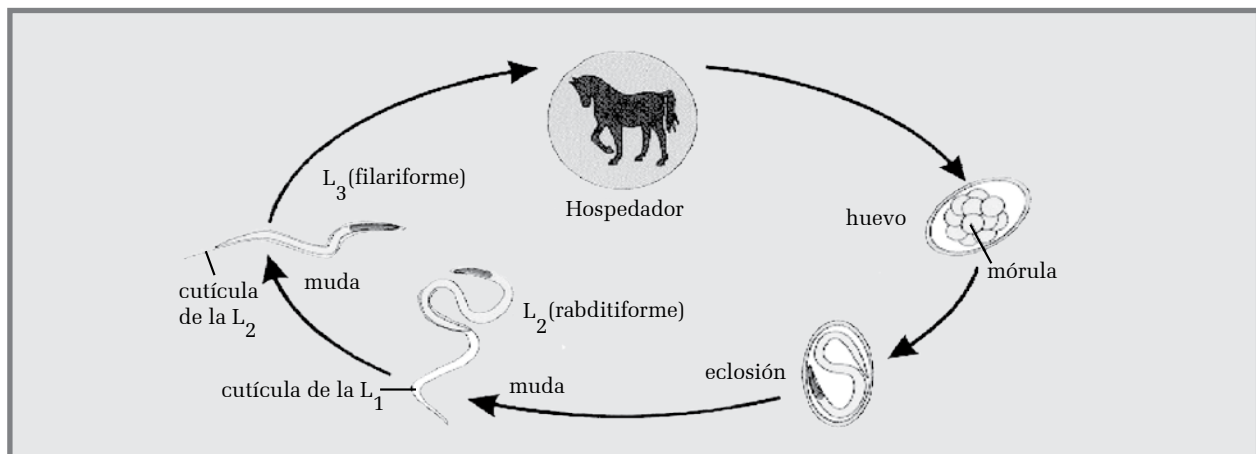
a condiciones ambientales favorables para su supervivencia, al final de los periodos secos y calientes, y al inicio de las épocas de lluvia. En este caso, las larvas acumuladas en las glándulas abomasales salen en masa, ocasionando una patología mucho más severa que la del tipo I. (Márquez, 2003).

**Oesophagostomun spp:** estos parásitos se localizan en cualquier lugar del tracto gastrointestinal, desde el píloro al recto, formando ovollos sobre la capa muscular de la mucosa, produciendo estructuras quísticas (Soulsby, 1982) de las paredes de la porción final del intestino delgado, y colon. A los 8 días posinfección producen nodulaciones a nivel del colon en torno de la larva que se desarrolla (L4), diez días después las larvas abandonan las nodulaciones y migran a la mucosa del ciego y del colon, el día 19 termina su desarrollo pasando a adulto. Los huevos se encuentran en las heces 32-42 días posinfección.

Otros nemátodos como *Dictyocaulus*, *strongyloides*, *Neoascaris* y *Bunostomum* se pueden encontrar en pequeñas cantidades, dependiendo de la región, aunque al parecer, estos helmintos no son causantes de mayores problemas sanitarios (Márquez, 2003).

En general todos estos parásitos tienen un ciclo de vida similar, como se muestra en la Gráfica 2.

**GRÁFICA 2. CICLO DE VIDA EN LOS NEMÁTODOS GASTROINTESTINALES DE LOS BOVINOS (RODRÍGUEZ, 2006).**



## ORIGEN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

El descubrimiento de nuevos compuestos químicos para el control de helmintos en los animales ha sido particularmente intenso a partir de la introducción del Tiabendazol (Lanusse y Prichard, 1993), situación que produjo impacto en el control del parasitismo gastrointestinal, dado el alto nivel de eficacia de estos compuestos (Echevarria, 1996). Un fenómeno interesante ha ocurrido en NGI y es el que algunas especies evaden los efectos letales de determinados antihelmínticos, conociéndose éste fenómeno como “resistencia antihelmíntica” siendo una amenaza a nivel mundial para el control de los parásitos del ganado vacuno.

La resistencia ha sido definida como la capacidad heredable que tiene una fracción de una población para tolerar dosis tóxicas de sustancias químicas que son letales para otras poblaciones de la misma especie, siendo la heredabilidad de la resistencia la característica más importante de este fenómeno. La resistencia no debe ser confundida con tolerancia, que se refiere a la falta de respuesta innata de la población parasitaria para cada droga, independientemente de la exposición previa (Suárez, 2001).

La resistencia puede ser intrínseca y adquirida. En la intrínseca un parásito es naturalmente insensible a una droga, debido a la ausencia de receptores o a la imposibilidad del fármaco para entrar a la célula (Márquez, 2003).

La resistencia adquirida se presenta en los PGI que inicialmente son susceptibles a la acción terapéutica de un antihelmíntico y posteriormente dejan de serlo luego de la ocurrencia de modificaciones genéticas que son heredables de generación en generación.

Los parásitos adultos dentro del hospedador, seleccionan sus genes de resistencia cuantas veces tengan

contacto con un antiparásito en un proceso hereditario e irreversible. Con la continua selección y reproducción de los nemátodos resistentes, aumenta la frecuencia de genes resistentes en la población tratada por lo que más nemátodos resistentes sobreviven hasta producir el fracaso del tratamiento antihelmíntico (Sangster, 1999). Por ello, se debe prevenir precozmente su establecimiento para retardar la acumulación de los genes de resistencia (Martín, 1987). Los híbridos resultantes de la combinación de genes de resistencia y sensibles retardan la aparición de poblaciones de parásitos resistentes (Sáenz *et al.*, 1991)

Las diferentes modificaciones genéticas que se encuentran en el proceso de la resistencia adquirida son:

1. **Mutación:** el ADN de la célula susceptible es alterado afectando la función normal de este, impidiendo que la droga produzca su acción farmacológica. La mutación siempre selecciona la población resistente y por esto las demás generaciones provendrán de las resistentes.
2. **Amplificación genética:** es causada por la producción exagerada de genes que conllevan a una producción incrementada de ciertas sustancias cruciales en la acción de un fármaco convirtiéndolas en resistentes a las concentraciones normales de la droga que son efectivas en condiciones normales.
3. **Transferencia genética:** las células o solo una célula del PGI susceptible puede adquirir un material genético de otro ambiente u organismo, introduciéndolo en su cromosoma, induciendo así resistencia a los antihelmínticos o a una droga en especial (Márquez, 2003).

La transferencia genética se divide en tres mecanismos básicos que son:

- ◆ **Transformación:** son piezas de ADN conteniendo los genes para resistencia a drogas, los cuales son captados del ambiente por una célula sensible incorporándolo en el cromosoma.
- ◆ **Transducción:** son genes de resistencia que son transportados desde una célula bacteriana a la otra por medio de bacteriófagos.
- ◆ **Conjugación:** genes de resistencia a drogas contenidos en un plásmido por una conexión directa formada en la bacteria por un Pili sexual.

La resistencia antihelmíntica se presenta de diversas formas:

- ◆ **Resistencia múltiple:** esta se presenta cuando los parásitos son resistentes a más de dos grupos de antihelmínticos diferentes.
- ◆ **Resistencia cruzada:** se presenta cuando se involucran sustancias químicas de modo de acción diferentes.
- ◆ **Resistencia paralela:** a diferencia de las anteriores se da cuando los parásitos de una población resistente a una sustancia química son también resistentes a otro producto que tiene similar mecanismo de acción (Márquez, 2003).

### **FACTORES QUE FAVORECEN LA APARICIÓN DE RESISTENCIA ANTHELMÍNTICA**

Condiciones climáticas y sistemas pastoriles que permiten la exposición a continuas reinfecciones, así como la adquisición de altas cargas parasitarias. El uso de programas de control basados en la utilización frecuente de antihelmínticos (Fiel *et al.*, 2001). Las principales causas de aparición de resistencia antihelmíntica son la alta frecuencia de desparasitaciones, el uso indiscriminado de antihelmínticos, la falta de ro-

tación de principios activos y el uso de drogas de efecto prolongado. Los antihelmínticos como los imidazotiazoles y benzimidazoles disminuyen rápidamente su concentración plasmática, dando poca oportunidad de tomar ventajas a los parásitos que presenten genes de resistencia (Fiel *et al.*, 2001).

La población refugio es una proporción de PGI que aún no se encuentran sujetos a la selección por los tratamientos químicos y éste es el factor más importante en el desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos (Van Wyk, 2001; Coles *et al.*, 2002). Dentro de las poblaciones en refugio de parásitos gastrointestinales se encuentran larvas resistentes en pastos, parásitos de animales no tratados y larvas hipobióticas.

Según Sangster (2001) menciona, cuanto mayor sea la proporción de la población que está en “refugio”, más lenta será la selección para resistencia. El fenómeno de la población en refugio es más importante en la selección de resistencia antihelmíntica en comparación con otros fenómenos, ya que estos se están investigando y recomendando con mayor frecuencia que la reducción de vermifugaciones y evitando dosis bajas (Van Wyk, 2001).

Según Fiel *et al.* (2001), en las condiciones citadas, el tamaño de las poblaciones en refugio condicionará la manifestación más o menos rápida de resistencia. Cuando la población en refugio es menor (praderas seguras y/o fines de verano) el uso de antihelmínticos puede llevar a una rápida selección de resistencia, y por el contrario la selección de resistencia es más lenta cuando las poblaciones en refugio son más grandes (praderas con alta infectividad en otoño-invierno y principios de primavera), debido a que los PGI susceptibles producirán un mayor efecto de dilución.

Según Sangster y Gill (1999) los parásitos que poseen ciclos de vida directos y cortos, sufren mayor presión de selección para el desarrollo de resistencia, que aquellos con ciclos de vida indirectos o com-

plejos, ya que estos últimos poseen varios estadios de sus ciclos de vida presionados por la selección ambiental, fuerza opuesta a la presión que selecciona para resistencia por fármacos.

La resistencia antihelmíntica debe diferenciarse de la falta de eficacia de un producto, ya que puede estar originada en la calidad del producto o en su forma de uso subdosificaciones, ajuste erróneo del peso vivo, pérdida del producto durante la aplicación, calibración de pistolas y jeringas, etc (Fiel *et al.* 2001).

Cuando la frecuencia de genes para resistencia es baja, si la misma es heredada como un carácter dominante y/o determinada por un único gen, responderá a la selección mucho más eficientemente y la resistencia, se desarrollará más rápido que aquella que es heredada como un carácter dominante / recesivo incompleto (donde el parásito heterocigoto tiene mayor similitud a su progenitor susceptible) y/o determinada por dos o más genes (Barnes *et al.*, 1995; Le Jambre, 1997).

En general, la selección para resistencia ocurre con aquellos fármacos que alcanzan concentraciones que matan la mayoría de los parásitos homocigotos susceptibles, y algunos heterocigotos, pero permiten que sobrevivan los homocigotos resistentes (Le Jambre, 1997; Smith, 1999).

Lo ideal sería que dentro de la población parasitaria prevalezcan los homocigotos susceptibles y los heterocigotos, lo cual ayudaría a diluir los genes para resistencia, retardando el desarrollo de resistencia (Le Jambre, 1997). Es indispensable que los PGI estén expuestos a concentraciones que sean mantenidas con una duración suficiente para remover todos los genotipos y que la población parasitaria no esté expuesta o que sufra una menor exposición.

Los diferentes factores que determinan la resistencia se pueden clasificar en externos e internos. Los

factores externos dependen de condiciones externas a los parásitos, como el mecanismo de acción de los antihelmínticos, el grado de eficacia, frecuencia de los tratamientos, dosis, rotaciones, y forma de manejo de los animales y los factores internos dependen específicamente de los PGI. Estos se dividen en dos características; las características genéticas (heredabilidad, dominancia, nivel de resistencia, y habilidad biológica relativa) y características biológicas (potencial biológico (reproductivo), intervalo entre generaciones, estadio expuesto a la droga, y la proporción de la población en refugio).

## ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE LA RESISTENCIA

Los cambios genéticos que conducen a la resistencia antihelmíntica y que conllevan a una serie de modificaciones bioquímico-moleculares determinantes en la disminución del efecto de una droga en el PGI resistente, según Mottier y Lanusse, 2002 pueden ser:

1. Cambios estructurales y/o funcionales de las células que modifican la captación (llegada) de la droga al sitio de acción, produciendo modificaciones en su metabolismo / inactivación y/o eflujo celular afectando la capacidad de la droga para acumularse intracelularmente.
2. Alteración del sistema enzimático necesario para la acción farmacológica de la droga.
3. Alteración de los receptores celulares por disminución en el número o en su afinidad, lo cual afecta la unión del fármaco con su sitio de acción y por lo tanto, su efecto farmacológico.
4. Variaciones en diferentes procesos celulares que compensan o contrarrestan el efecto inducido por un fármaco.

## Clasificación de los antihelmínticos

Rubial *et al.* (2001), agrupan los antihelmínticos de la siguiente forma:

- ◆ Piperazinas,
- ◆ Organosfosforados Diclorvos, Haloxano, Triclorfon, entre otros.
- ◆ Tetrahydropyrimidinas (Morantel y Pirantel).
- ◆ Imidazothiazoles (Tetramisol y Levamisol).
- ◆ Bencimidazoles (Thiabendazol, Mebendazol, Fenfendazol, Oxfendazol, Oxibendazol y Albendazol).
- ◆ Pro-bencimidazoles (Febantel).
- ◆ Lactonas macrocíclicas (Ivermectina, Eprinomectrina, Doramectina, Moxidectina, Milbemycina y Selamectina).

## MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

### IMIDAZOTIAZOLES (LEVAMISOL) Y TETRAHIDROPYRIMIDINAS (MORANTEL, PIRANTEL):

Las cepas mutantes de *H. contortus* y *T. Colubriformis* resistentes a Levamisol son también resistentes a las drogas relacionadas con Morantel y pirantel, que aunque son químicamente diferentes, poseen un mismo mecanismo de acción que el Levamisol (LVM) (Prichard *et al.*, 1980). Borgsteede (1991) confirmó que cepas de *Ostertagia ostertagi* resistentes a Morantel presentan resistencia lateral a LVM. Martín y Robertson (2000) mencionan que la función normal del receptor para levamisole está modificada en los helmintos resistentes; los canales activos de los NGI resistentes permanecen menos tiempo abiertos, produciéndose una menor despolarización y por consecuencia menos contracción. En el sitio de unión de baja afinidad del receptor, la expresión de resistencia del Levamisol, se debe a la alteración o reducción en el número de receptores colinérgicos o en la menor afinidad de estos

receptores en los nematodos levamisol-resistentes, fenómeno que pudiera ser una característica ligada al sexo con un gen o grupos de genes involucrados (Mottier y Lanusse, 2002).

Los PGI resistentes tienen menor afinidad por la droga y más sitios de unión, posiblemente reflejando un aumento de desensibilización del receptor (Moreno-Guzmán y Col, 1998). Los alelos que se han identificado y que interfieren en la resistencia, son algunos genes Lev-1, unc-29 y unc-38 encontrados en *C. Elegans*, los cuales son responsables de esta resistencia, y codifican para subunidades proteicas que forman los canales iónicos nicotínicos del nemátodo (Flemming *et al.*, 1997). Una mutación es la consecuencia que codifica una región transmembrana de una de las subunidades estructurales de la molécula del receptor en el aislamiento de una cepa resistente *C. Elegans* Lev-1 ha sido descrita (Mottier, L.; Lanusse, C. 2002). Esta mutación se da en un solo aminoácido, donde un reemplazo de ácido glutámico por lisina en posición 237 en el poro iónico del receptor nicotínico ha sido observado (Flemming *et al.*, 1997). Se considera que este cambio es suficiente para cambiar el canal iónico de catiónico a aniónico, convirtiendo al receptor de un canal excitatorio en inhibitorio. Además, Lev-1 contiene un segundo aminoácido leucina en el poro del canal iónico en la posición 247 (Galzi *et al.*, 1992). Este punto de mutación producirá un aumento en la desensibilización del receptor colinérgico y reducirá la afinidad por el levamisole, resultando éste menos potente como agonista (Martín, 1997).

## BENZIMIDAZOLES

La resistencia se da cuando los genes que codifican para  $\beta$ -tubulina, sufren mutaciones causando la pérdida del receptor de alta afinidad localizado en el extremo N-terminal de dicha proteína (Prichard *et al.*, 1980). Según Dobson y col (1996), se determinó que la resistencia a los benzimidazoles es más común en *H. Contortus*, *T. Colubriformis* y *Ostertagia*



*circumcincta*. Se han identificado dos isotipos de  $\beta$  tubulina: que son isotipo 1 e isotipo 2, los cuales corresponden a genes separados (Lubega, 1994). En los nemátodos se ha observado que la mayor incidencia a la resistencia a los benzimidazoles ha sido asociada con cambios genéticos principalmente en el isotipo 1. Tres cambios de aminoácidos fueron observados en el isotipo 1 de  $\beta$  tubulina entre *H. contortus* susceptibles (BZD-S) (Geary *et al.*, 1992) y resistentes (BZD-R) (Kwa *et al.*, 1993) a benzimidazoles, en la posición 76, donde fenilalanina (BZD-S) es reemplazada por valina (BZD-R), y en la posición 200 donde fenilalanina (BZD-S) es reemplazada por tirosina (BZD-R) y en la posición 368 donde valina (BZD-R) es reemplazada por isoleucina (BZD-S).

Según Kwa *et al.*, (1994) demostró una correlación total entre la resistencia a benzimidazoles y la mutación en el isotipo 1 de la  $\beta$  tubulina en la posición 200, donde fenilalanina (Fen) es reemplazada por tirosina (Tir) en los diferentes aislamientos, *H. contortus* y *T. colubriformis* resistentes a benzimidazoles. Esta mutación en la posición 200 en ambos isotipos genéticos 1 y 2 de  $\beta$  tubulina, causa la pérdida de sitio de unión de alta afinidad en *H. contortus* resistentes a benzimidazoles (Prichard, 1999). El grado de resistencia depende de la acumulación de mutaciones como Fe200Tir y en otros codones en los isotipos genéticos 1 y 2 de  $\beta$  tubulina (Beech, 1994; Roos, 1995; Prichard *et al.*, 2000), o depende de ese tipo de mutación en el isotipo 1, seguido por una pérdida de locus del isotipo 2. Prichard en el 2000, demostró que las mutaciones en el codón 200 o 167 de la  $\beta$  tubulina llevan a que se pierda la unión a benzimidazoles con el consecuente desarrollo de resistencia.

En los mamíferos, la  $\beta$  tubulina también tiene tirosina en la posición 200 y es poco probable que la resistencia a los Benzimidazoles pueda ser solucionada haciendo cambios en la química de la droga, ya que no sería posible diseñar un agente selectivamente tóxico contra los nemátodos porque la  $\beta$  tubulina de

los nemátodos y los del huésped animal tendrían afinidad similar por las moléculas de benzimidazoles, lo cual, reduciría el adecuado margen terapéutico en los actuales fármacos BZD (Prichard *et al.*, 1994; Martín, 1997).

Varios estudios han sugerido que la resistencia a benzimidazoles rápidamente alcanza la homocigosis, lo cual, indicaría que la reversión podría ser extremadamente lenta (Prichard *et al.*, 1980).

## AVERMECTINAS Y MILBEMICINAS

Mutaciones simultáneas en los tres genes *avr-15*, *avr-14* y *glc-1* conducen a altos niveles de resistencia a la Ivermectina en *C. Elegans* (Dent *et al.*, 1997). También se ven mutaciones en los genes *unc-7* y *unc-9* llevando a que los efectos de AVM se restrinjan a las neuronas con receptores GluCl, sin alcanzar el músculo faríngeo. Sin embargo, la Ivermectina puede actuar directamente sobre el músculo faríngeo a través de GluCl $\alpha$ 2.

La Ivermectina puede inhibir la bomba faríngea a través de dos vías: 1) a través del producto del gen *avr-15* (GluCl $\alpha$ 2), y 2) a través de *avr-14*, *unc-7* y *unc-9*, expresados en la Neurona extrafaríngea (Dent, 2000). La presencia de más de una subunidad  $\alpha$  en el receptor GluCl, indica la presencia de más de un sitio de acción para Ivermectina (Mottier y Lanusse, 2002). La resistencia a la Ivermectina también ha sido relacionada con una disminución en la permeabilidad de la cutícula de los nemátodos resistentes a esta droga. Existen genes denominados *Dyf*, cuyo producto de expresión es responsable de esta captación. Cuando mutan, como por ejemplo *osm-1*, confiere resistencia debido a que hacen a los parásitos menos permeables a la droga, la cual, no puede alcanzar su receptor (Dent *et al.*, 2000).

La resistencia a las Avermectinas y Milbemicinas podría estar asociada a modificaciones de las subunida-

des del receptor GluCl y/o a la expresión aumentada de una glicoproteína de membrana, Glicoproteína P (Gp P), la que posiblemente impedirá alcanzar concentraciones activas de la molécula antiparasitaria en el receptor de glutamato del parásito resistente (Xu, 1998; Molento y Prichard, 1999; Sangster, 1999).

Varios autores demostraron que hay cuatro genes (Sangster, 1994; Xu, 1998) y al menos 40-50 diferentes alelos Gp p en *H. contortus*. La Gp P está mutada o sobreexpresada en células resistentes. La estructura y/o la transcripción del gen de la Gp P están alterados en nemátodos resistentes a endectocidas (Xu, 1998). Estos autores demostraron que el ARNm de la Gp P está presente en mayores cantidades en *H. contortus* resistentes a Ivermectina comparada con los susceptibles, lo que estaría indicando la sobreexpresión de la Gp P en nemátodos resistentes (Xu, 1998). Dos familias de genes que codifican para la Gp P (PGP-A en *H. contortus* y A28) (Sangster, 1999) y para las subunidades del canal GluCL son seleccionadas por tratamientos repetidos con Ivermectina o Moxidectina (Blackhall *et al.*, 1998).

## DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

La resistencia en un determinado sistema de explotación puede sospecharse al administrar cierto tipo de antihelmíntico, y encontrar una baja respuesta, y por ende, baja en la producción, por lo cual es necesario realizar algunas pruebas para determinar que PGI y que medicamentos están fallando (Márquez, 2003).

Varias técnicas han sido descritas para detectar resistencia a los antihelmínticos en ciertas poblaciones de NGI: pruebas *in vivo* como pruebas de eficacia antihelmíntica controlada y pruebas de reducción de la oviposición; y pruebas *in vitro*: como análisis de eclosión de huevos, análisis de motilidad larval, prueba de fijación a la tubulina y análisis del desarrollo larval (Taylor, 1990).

## PRUEBAS IN VIVO

- ◆ Prueba de reducción de la oviposición (FERC): evalúa la eficacia antihelmíntica mediante la comparación de recuentos de huevos en materia fecal antes y después de la vermifugación, en la cual, porcentajes en la reducción de huevos inferiores al 90% entre los 7 y 10 días posttratamiento son indicadores de resistencia (Kumar y Yadar, 1994). En esta prueba como requisito, se debe tener un grupo control no tratado que sirva como testigo a los diferentes cambios que muestren los demás grupos y la realización de coprocultivos para así identificar los diferentes géneros de PGI que estén realizando resistencia.

Estos coprocultivos se organizan en pool por grupos (4-5 g por muestra) el día 0 y 14 – 15 post tratamiento, y la identificación posterior de las larvas infectantes (L3) (Figura 1). El éxito del cultivo dependerá de tres factores: humedad, oxigenación, y temperatura adecuada; la temperatura debe estar entre 10 y 26°C (óptima 22-24°C). La recuperación de estas larvas se da por migración en medio acuoso (Figura 2) y la identificación a nivel del género en base a sus características morfológicas (Fiel *et al.*, 2001).

Se dice que existe resistencia cuando la reducción de huevos fecales es menor del 95% y el límite inferior para su intervalo de confianza del 95% menor o igual al 90%; si solo se cumple uno de estos dos criterios, no se habla de resistencia si no de sospecha (Coles *et al.*, 1992).

- ◆ Los resultados de esta prueba son solo una estimación de la eficacia antihelmíntica debido a que la postura de huevos no siempre guarda una estrecha correlación con la carga parasitaria y solo mide el efecto sobre hembras maduras (Presidente, 1985). Puede existir alguna controversia en el

momento de realizar el recuento de huevos post-tratamiento, ya que en ocasiones el antihelmíntico puede provocar una supresión temporal de la ovoposición sin que los PGI sean eliminados, por lo tanto, el mejor momento es a los 10-14 días postratamiento (Sánchez *et al.*, 2002).

- ◆ Prueba de la eficacia antihelmíntica controlada: se determina por la comparación de poblaciones de PGI en grupos de animales tratados y animales control, distribuidos aleatoriamente. La necropsia, identificación y conteo del total de PGI adultos recuperados de la luz intestinal de los animales, son comparados entre los dos grupos (Márquez, 2003).

## PRUEBAS IN VITRO

Las técnicas in vitro necesitan una buena capacitación de los técnicos para efectuar este método y se requiere trabajar con poblaciones parasitarias mono-específicas a los efectos de no dificultar la interpretación de resultados, lo que hace que sea más complicado como diagnóstico en el campo. Además, se necesita el mantenimiento del laboratorio, a modo de referencia, de una cepa susceptible y una resistente, estas técnicas son generalmente utilizadas para investigación (Cutulle *et al.*, 2001). Estas técnicas son las siguientes:

- ◆ **Análisis de eclosión de huevos:** la prueba se basa en el aislamiento de los huevos de la materia fecal y posterior incubación de los mismos no desarrollados de nemátodos en una serie de diluciones de productos a base de benzimidazoles por un tiempo determinado, para posteriormente determinar el porcentaje de huevos que embrionan (Márquez, 2003).
- ◆ **Prueba de motilidad larval:** esta prueba se ha desarrollado especialmente en larvas de *Ostertagia spp.* y *Haemonchus spp.* Esto ha sido basado en que algunas fármacos como el Levamisol, el Pirantel y el morantel actúan produciendo parálisis en los NGI. Las larvas de los PGI son expuestas durante 24 horas a diferentes concentraciones de una determinada droga, posteriormente se mide el grado de motilidad de la larva en un medidor de micromotilidad.
- ◆ **Prueba de fijación a la tubulina:** es la capacidad de los benzimidazoles para fijarse a la tubulina de los PGI, en sobrenadantes de suspensiones de larvas de tercer estado. Se produce un extracto crudo de tubulina de PGI adultos, larvas infectivas o huevos y estos son incubados con benzimidazole marcado con tritio hasta alcanzar un equilibrio, los extractos de tubulina de PGI resistentes unen sustancialmente menos benzimidazol que los PGI susceptible (Cutulle *et al.*, 2001).
- ◆ **Análisis de desarrollo larval:** esta prueba se basa en exponer huevos de nemátodos a diluciones seriadas de drogas en medios específicos y dejarlos desarrollar hasta larvas infectantes del tercer estado en una placa multipocillos que contiene medio nutritivo para el desarrollo de los huevos y distintas concentraciones del antihelmíntico, existiendo además un pocillo control que contiene solo medio nutritivo (Márquez, 2003).
- ◆ **Parálisis de los huevos parálisis larval:** este test se refiere a la diferencia entre cepas resistentes y susceptibles evaluando la proporción de recuperación de la parálisis que ocasionan distintas concentraciones de levamisole en larvas no eclosionadas (Dobson *et al.*, 1996).

## CONTROL DE LA RESISTENCIA

En el combate de las parasitosis causadas por nemátodos en el ganado, es necesario considerar diversas formas de control como son algunas medidas de manejo como rotación de potreros y pastoreo alternado con

diferentes especies, selección genética de animales resistentes a estos PGI, inmunización del ganado, ya sea mediante la administración de larvas irradiadas o de extractos protéicos purificados obtenido de células intestinales de nemátodos, así como el ajuste en la cantidad de la proteína en la dieta, que al parecer surte un efecto benéfico directo en la respuesta natural de los animales contra los parásitos (Mendoza, 2002).

## ESTRATEGIAS PARA RETARDAR EL DESARROLLO DE RESISTENCIA

Algunas prácticas de manejo disminuyen el número de tratamientos antihelmínticos, con lo cual se disminuye el contacto del parásito con el antiparasitario reduciéndose así el desarrollo de resistencia.

Algunas de estas prácticas corresponden a:

- ◆ **Uso de animales resistentes:** algunos rumiantes han demostrado poseer la característica deseable de ser resistentes por naturaleza a los NGI. Se han realizado algunos estudios en bovinos, en Australia y Nueva Zelanda, centrados en la corrección directa que existe entre el conteo de huevos en heces y la carga parasitaria de los animales jóvenes. El nivel de eliminación de huevos en la materia fecal ha demostrado ser heredable, sugiriéndose la práctica de selección de animales resistentes en fincas como una de las alternativas en el control de parásitos (Márquez, 2003).
- ◆ **Mejoramiento nutricional:** es uno de los factores más importantes que se debe tener en cuenta, ya que tiene estrecha relación entre la mala nutrición y la infección con los PGI, reportándose que los animales que reciben suplementación alimenticia, reducen el número de huevos de helmintos por gramo de heces (Ketzis, 2002).
- ◆ **Control biológico en base a escarabajos estercoleros, hongos *Arthrobotrys* y *Duddingtonia flabida*:**

**grans:** este último es el hongo que ha demostrado tener mayor habilidad para reducir las larvas de parásitos *trichostrongylidos* en las heces de los animales (Larsen, 1999; Padilha, 1996), y en pasturas con importante contenido de taninos condensados (*Holcus lanatus*, *Lotus pedunculatos*) (Nari *et al.*, 2000). Esta especie, posee la característica de producir una gran cantidad de clamidosporas resistentes a los procesos digestivos, y una vez que han sido administradas a los animales, son finalmente eliminados al ambiente junto con las heces, desarrollando in situ y ejerciendo su efecto depredador de nemátodos (Llerandi y Mendoza, 1998).

Los hongos nematófagos exhiben una serie de ventajas a ser aprovechadas: tienen ciclo de vida corto con alta actividad reproductiva; algunos son específicos como los hongos endoparásitos, producen esporos de resistencia o quedan en una fase saprofítica en ausencia de sus hospedadores. Además, no son patógenos para los animales (Deschiens, 1939). Como desventaja su acción es más lenta cuando son comparados con los antihelmínticos; no eliminan totalmente las poblaciones parasitarias sino que las reducen, aunque puede ser benéfico ya que la población parasitaria remanente actúa como estímulo permanente de la respuesta inmunológica contra los parásitos, si se mantiene en bajo número (Saumell y Fernández, 2000).

Estos hongos son llamados nematófagos ya que tienen la capacidad de producir órganos especializados para aprehender, destruir y alimentarse de los nemátodos. Pueden ser clasificados como predadores de endoparásitos. Los predadores son especies que producen un sistema hifal externo en el ambiente. Las estructuras depredadoras pueden ser simples, como las especies que forman hifas adhesivas aceptadas, hasta altamente especializada como son los anillos constrictores (Barron, 1977).

- ◆ **Silvopastoreo:** un sistema pastoril, es una opción de producción en el cual árboles y arbustos interactúan con pastos y animales bajo un sistema de manejo integral (Babbar, 2003). Por lo tanto, este sistema puede mitigar el impacto de los endoparásitos del ganado directa o indirectamente por el estado de confort y mejoramiento nutricional de los animales (Soca *et al.*, 2001).
  
- ◆ **Control químico a base de drogas antihelmínticas:** es la medida mas difundida, que ya se mencionó anteriormente su mecanismo de acción.
  
- ◆ **Pastoreo rotacional y alterno:** este tipo de pastoreo es una alternativa eficaz para el control de los NGI, toda vez que se obtienen pasturas seguras utilizando diferentes especies de rumiantes o distintas categorías dentro de una misma especie. Si existe transmisión cruzada esta será de poca importancia, esto hace que durante el tiempo en que los bovinos estén pastoreando no se está produciendo contaminación para los ovinos y las larvas L3 presentes disminuyen sus poblaciones por la acción de los factores climáticos (Nari, 2000).
  
- ◆ **Población refugio:** como ya se mencionó anteriormente es una proporción de PGI que aún no se encuentran sujetos a la selección por los tratamientos químicos y éste es el factor más importante en el desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos (Van Wyk 2001; Coles *et al.* 2002, Dentro de las poblaciones en refugio de parásitos gastrointestinales se encuentran larvas resistentes en pastos, parásitos de animales no tratados y larvas hipobióticas.

La consideración de los distintos aspectos epidemiológicos y de medidas de manejo acordes al mismo, son también factores relevantes de la aparición de resistencia y de la reversión de la ya existente.

Conservar la susceptibilidad antihelmíntica en algunas poblaciones parasitarias es de fundamental importancia. Cabe mencionar que es de importancia admitir algunas pérdidas de producción debidas a parásitos para así lograr el mantenimiento de la susceptibilidad (Montier y Lanusse, 2002). Una opción muy práctica sugerida es no tratar una parte de los animales, o sea, permitir el refugio o el escape de susceptibles al tratamiento antihelmíntico. Cuando el 20% de los animales no son tratados, se retarda la evolución de resistencia y se ahorra en la compra de antihelmínticos (Barnes *et al.*, 1995).

Aumentar la biodisponibilidad de droga activa es una estrategia farmacológica que ayuda en la optimización del tratamiento y en retardar el desarrollo de resistencia. Toda herramienta farmacológica que permita aumentar la biodisponibilidad sistémica del fármaco antihelmíntico, ayudará a que mayores concentraciones de droga con una duración suficiente alcancen los sitios de localización parasitaria y puedan entrar en contacto con los helmintos blanco (Montier y Lanusse, 2002).

Dentro del manejo de la alimentación, se puede modificar el comportamiento farmacocinética de los antihelmínticos, disminuyendo el consumo temporalmente en los animales, previo al tratamiento antihelmíntico (Ali y Hennessy, 1993) o ayunándolos, antes y después del tratamiento antihelmíntico. Esto hace que se retarde el transito gastrointestinal, produciéndose así una prolongación de la duración de la absorción gastrointestinal de los compuestos antihelmínticos (Ali y Hennessy, 1993).

## REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA

Es definido como el descenso o la disminución en la frecuencia de individuos resistentes en una población de helmintos después de retirar el antihelmíntico que estaba seleccionado para resistencia (Márquez, 2003).

A pesar de algunas demostraciones de la reversión temporal hacia estados de susceptibilidad antihelmíntica, con la reintroducción de drogas que habían seleccionado cepas de helmintos resistentes, se corre el riesgo de incrementar la resistencia luego de la reintroducción (Jackson, 1993).

Waller demostró en 1988, que en poblaciones compuestas de PGI resistentes predominantemente homocigotos, poca o ninguna reversión ocurrirá, lo contrario ocurre, cuando se trata de una población de NGI heterocigotos, en los cuales cierto grado de reversión a susceptibilidad se presentara.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ali, D. y Hennessy, D. "The effect of feed intake on the rate of flow of digesta and the disposition and activity of oxfendazole in sheep". *Int. J. Parasitol.* 23. (1993): 447-484. Citado por: Mottier, L.; Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Barnes, E.; Dobson, R. y Barrer, I. "Worm control and Anthelmintic resistance: adventures with a model". *Parasitol. Today*, 11. (1995): 56-63, Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Barron, G. *The Nematode-destroying Fungi*. Canada: Canadian Biological Publications, Gelfh. Citado por Saumell, C. y Fernández, A. 2000. Hongos nematofagos para el control biológico de nematodos parásitos de rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria* 81. 270-273.
- Babbar, L. *Sistemas Sivopastoriles. Curso Sistemas Agroforestales Tropicales. Memorias. Corpoica-CATIE*. Mosquera, Cundinamarca, Colombia. Citado por: Márquez, D. 2003. Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia, *Corpoica*.
- Beech, R.; Prichard, R. y Scott, M. "Genetic variability of the beta-tubulin genes in benzimidazole-susceptible and resistant strains of *Haemonchus contortus*". *Genetics* 138. (1994): 103-110. Citado por: Mottier, L.; C. Lanusse. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Blackhall, W. *et al.* "Haemonchus contortus: Selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectina-selected strains". *Exp. Parasitology*. 90. (1998): 42-48. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Borgsteede, F. 1991. "Further studies with a strain of *Ostertagia ostertagi* resistant to morantel tartrate". *Int. J. Parasitol.* 21. (1998):867-870 Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Coles, G. "Sustainable use of anthelmintics in grazing animals". *The Veterinary Record* 151. (2002): 165-169.
- Coles, G. *et al.* *Vet parasitology* 44. (1998): 35-44. Citado por: Álvarez, M.; Pérez, J.; Rojo, A. La Resistencia a los Antihelmínticos en los Rumiantes: Métodos de Diagnostico y Situación en España, Departamento da Sanidad Animal, *Universidad de León* (2002).



- Cutulle, C. *et al.* "Métodos in Vitro para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica". *Vet. Arg.* XVI 157. (2001): 514-521.
- Dent, J. *et al.* "The genetic of Ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*". *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 97 (2000): 2674-2674. Citado por: Mottier, L.; y Lanusse, C. (2002). Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Deshiens, R. "Innocuite des Hyphomycetes predateurs de nematodes pour la vegetation des paturages et pour le betail". *Comp. Rend. Sean. Soc. Biol.* 135. (1939): 830-832. Citado por: Saumell, C. y Fernández, A. 2000. Hongos nematofagos para el control biológico de nematodos parásitos de rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria* 81. 270-273.
- Dobson, R.; Le Jambre., L. y Gill, H. "Management of Anthelmintic resistance: inheritance of resistance whit persistent drugs". *Int. J. Parasitol.*, 26. (1996) :993-1000. Citado por: Mottier, L.y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Echevarria, F. "Antihelmínticos y resistencia antihelmíntica. Memorias curso-taller Internacional de Epidemiología y Diagnostico de Endoparásitos en Rumiantes". *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Programa nacional de Epidemiología Veterinaria.* Bogota D.C. (*Biblioteca Agropecuaria de Colombia*). Citado por: Márquez, D. Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia, *Corpoica*, 2003.
- Fiel, C.; *et al.* "Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis". *Vet. Arg.* XVIII 171. (2001): 21-33.
- Flemming, J. *et al.* "Caenorhabditis elegans levamisole resistance genes Lev-1, unc-29, and unc-38 encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits". *J. Neuroscience*, 17. (1997): 5843-5857. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Galzi, J. *et al.* "Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic". *Nature* 359 (1992): 200-505. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Geary, T. *et al.* "Three  $\beta$ -tubulin cDNAs from the parasitic nematode *Haemonchus contortus*". *Mol. Biochem. Parasitology* 50. (1992): 295-306. Citado por: Mottier, L.y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Jackson, F. "Anthelmintic resistance-The state of play". *British Veterinary Journal* 149. (1993): 123-135. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*, *Corpoica*, 2003.
- Ketzis, J. *New parasite control methods. ¿How will they affect livestock nutrition and diet?* <<http://www.ansci.cornell.edu/tmplobs/baagzAD7b.pdf>>
- Knox, M. "Effectiveness of copper oxide wire particles for *Haemonchus contortus* control in sheep". *Australian Veterinary Journal* 80. 4. (2002): 224-227. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*, *Corpoica*, 2003.

- Kumar, R. y Yadav, C. "Prevalence of febendazol resistense in ovine nematodes in north west India". *Tropical Animal Health and Production* 26. (1994): 230-234. Citado por Márquez, D. 2003, Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia, Corpoica.
- Kwa, M.; Kooyman, F.; Boersema, J. y Roos, M. "Effect of selection for benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* on  $\beta$  tubulin isotype I and isotype 2". *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 191. 413-419. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Lanusse, C. "Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminants Anthelmintic". *Veterinary Parasitology* 49. (1993): 123-158. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*. Corpoica, 2003.
- Larsen, M. "Biological control of helminthes". *International Journal for Parasitology* 29. (1999): 139-146. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*, Corpoica, 2003
- Le Jambre, L. "Genetics of Anthelmintic resistance in parasitic nematodes". *Brazilian J. Vet. Parasitology* 6. 2. (1997): 379-392. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Lubega, G.; Klein, R.; Geary, T. y Prichard, R. "Haemonchus contortus: the role of two  $\beta$  tubulin gene sugfamilies in the resistance to benzimidazole Anthelmintic". *Biochem. Pharmacol* 47 (1994): 1705-1715. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Llerandi, J. y Mendoza, G. "Resistance of nematophagus fungi chlamydospores to the digestive processes of sheep in Mexico". *Journal of Helminthology* 72. (1998): 155-158.
- Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*, Corpoica, 2003.
- Márquez, D. "Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control". *Revista Corpoica Ceisa. Programa salud animal* 4. 1. (2003b).
- Martín, R. "Modes os actino of Anthelmintic drugs". *Vet. J.*, 154. (1997): 11-34. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Mendoza, P. *Control biológico de Nematodos Gastrointestinales, Diagnostico y control de las Nematodosis Gastrointestinales y pulmonares de los Rumiantes*. Humanatla, Tlaxcala, 2002.
- Molento, M. y Prichard, R. "Effects of multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*)". *Parasitol. Res.* 85. 2. (1999): 1007-1011. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Moreno, M. *et al.* Levamisole binding sites in *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 28: 413-418. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.



- Mottier, L. y Lanusse, C. Bases moleculares de la resistencia a Fármacos Antihelmínticos, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Nari, A.; Honsen, J.; Eddi C. y Martins, J. *Control de la Resistencia a los Antiparasitarios a la luz de los conocimientos XXI*, 2000.
- Padilha, T. *Controle dos nematódeos gastrintestinais em Ruminantes*. Brasil: EMBRAPA, 1996: 199-203.
- Presidente, P. "Methods for detection of resistance to anthelmintics". *Resistance in nematodes to Anthelmintic drugs*. Anderson, N. y Waller, P. CSIRO Division Animal Health: 13-27. Citado por: Fiel, C. *et al.* "Resistencia Antihelmíntica en Bovinos: Causas, Diagnostico y Profilaxis". *Vet. Arg. XVIII 171*. (2001): 21-33.
- Prichard, R. *et al.* "The problem of Anthelmintic resistance in nematodes". *Aust. Vet.J.* 56. (1980): 239-251. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Prichard, R. "Anthelmintic resistance". *Vet. Parasitology* 54. (1994): 259-268. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Prichard, R. "Mechanisms of Anthelmintic resistance in parasitic nematodes". *XI seminario brasileiro de parasitología veterinaria*. Salvador, Brasil. (1999): 20-21. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Prichard, R. *et al.* "Polymerisation and benzimidazole binding assays with recombinant  $\beta$ - and  $\beta$ - tubulins from *Haemonchus contortus*". *Proceeding de American Association of Veterinary Parasitology, 45 annual Meeting. Abstrac 108* (2000). Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Rodríguez, I. *Parásitos gastrointestinales en bovinos*. <<http://72.14.209.104/search?q=cache:vC7DDijQsJ4J:www.uady.mx/~veterina/Modulos/PAGINAWEBBOVINOS/Parasitosgastrointestinalesbovinos.ppt+parasitosgastrointestinalesbovinos&hl=es&gl=co&ct=clnk&cd=1>>
- Roos, M.; Kwa, G. y Grant, W. "New genetic and practical implications of selection for Anthelmintic resistance nematodes". *Parasitology Today* 11. (1995): 148-150. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Rubilar, L. *et al.* "Eficacia antihelmíntica de tres endectocidas administrados por via oral en caballos". *Arch. Med. Vet.* 33. (2001): 69-75. Citado por: Prada. G. *Mecanismos de Acción de las Lactonas Macrocíclicas en Nematodos del Equino*. Rev de la Facultad Medicina Veterinaria 6. 2003.
- Sáenz, M. *et al.* "Diagnóstico in vitro de una población de *Haemonchus contortus* de caprino resistente al thiambendazo". *Técnica Pecuaria en Mexico. Vol. 29, No. 3*. (1991): 1-5. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.

- Sánchez, S.; Alvarez, L. y Lanusse, C. "Enhanced plasma and target tissue availabilities of albendazole and albendazole sulphoxide in fasted calves: evaluation of different fasting intervals". *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 23 (2002): 193-201 Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. 2002. *Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos*. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Sangster, N. "¿Pharmacology of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes: will it occur with the avermectine/milbemycis?" *Vet. Parasitol.* 85 (1999): 189-204. Citado por: Prada, G. *Implementación y uso del Test de reducción de la Oviposición y Análisis del Desarrollo de Larvas para la Detección de Resistencia Antihelmíntica frente a las Lactonas Macroscópicas en Nematodos del Equino*. Chile, 2002.
- Sangster, N. "Managing parasiticide resistance". *Vet. Parasitol.* 98. (2002): 89-109. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Saumell, C. y Fernández, A. "Hongos nematófagos para el control biológico de nematodos parásitos de rumiantes". *Revista de Medicina Veterinaria* 81 (2000): 270-273.
- Smith, G.; Grenfell, B.; Isham, V. y Cornell, S. "Anthelmintic resistance revisited: underdosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities". *Int. J. Parasitol.* 29. (1999): 77-91. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Soca, M.; Simon, L. Sánchez, S. y Gómez, E. "Parasitological dynamics of bovine dropping under Silvopastoral system conditions". *Internacional Symposium on Silvopastoral Systems. Second Congress on Agroforestry and Livestock Production*. Compilador: Ibrahim, M. San José de Costa Rica. Abril de 2001. p. 122-126. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*, Corpoica, 2003.
- Soulsby, E. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos* (7ª ed.) México, Interamericana, 1982.
- Suarez, V. "Helminth control on grazing ruminants and environmental risks in South America". *Veterinary Research* 33. 65. (2001): 563-573. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.
- Taylor, M. "A Larval development test for the detection of Anthelmintic resistance in nematodes of sheep". *Research in Veterinary Science* 49. (1990): 198-202. Citado por: Márquez, D. *Nuevas Tendencias para el Control de los Parásitos de Bovinos en Colombia*. Corpoica, 2003.
- Van Wyk, J. "Refugio-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of Anthelmintic resistance". *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 68. (2001): 47-57.
- Waller, P.; Dobson, R. y Haughey, K. *The effect of combinations of anthelmintics on parasite populations in sheep*. *Aust. Vet. J.* 37. (1988): 138-140.
- Xu, M. et al. "Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog". *Mol. Biochem. Parasitol* 91. (1998): 327-335. Citado por: Mottier, L. y Lanusse, C. *Bases moleculares de la resistencia a Fármacos antihelmínticos*, 2002. <<http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>>.