

Dildo Márquez Lara¹

ABSTRACT

Title: Anthelmintic resistance: origin, development and control

A wide range of modern anthelmintics, with broad-spectrum and high efficacy to control helminth infections in ruminants, are commercially available, such as benzimidazoles, nicotinic agonist and macrocyclic lactones. The intensive use and inadequated dosages of anthelmintics in ruminants have contributed to develop resistance, becoming the main threat to control endoparasites. Anthelmintic resistance has been reported mainly in small ruminants, but there is scarce information about it in nematodes of cattle. Genetic, reproductive, ecological and anthropic factors have been found to enhance the development of resistance. Because nematode resistance has increased in the last decade, it is necessary to investigate about its occurrence and incidence; so, developing and standarization of improved techniques for detection of the resistance should be carried out. There are several techniques (*in vivo* and *in vitro*) available for detection of anthelmintic resistance, being the Faecal Egg Count Reduction Test (FECRT) the most commonly used. Early detection of resistance is an essential factor on parasite control strategies in order to preserve the effectiveness of anthelmintics. Different chemical and non-chemical helminth control strategies have been suggested in order to slow the onset of resistance.

Keywords: Anthelmintic resistance, nematodes, anthelmintics, cattle, sheep, tests, control.

Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control

RESUMEN

Una variada gama de antihelmínticos modernos, con espectro amplio y alto grado de eficacia, como los benzimidazoles, los agonistas nicotínicos y las lactonas macrocíclicas, se encuentran disponibles comercialmente en el mundo para el control de las infecciones causadas por helmintos en rumiantes. El uso intensivo y la administración inadecuada de antihelmínticos, en épocas y grupos de rumiantes no apropiados, han contribuido al desarrollo de resistencia a estas sustancias, lo que constituye un obstáculo importante para el control de los endoparásitos. La resistencia antihelmíntica se ha reportado principalmente en pequeños rumiantes y es escasa la información relacionada con los nemátodos de bovinos. Se han identificado algunos factores aceleradores del proceso de desarrollo de resistencia, entre ellos factores genéticos, reproductivos y ecológicos de los parásitos, así como factores de orden antrópico, siendo la resistencia una característica heredable. El aumento de la resistencia a los antihelmínticos en la última década, así como los requerimientos de información sobre su ocurrencia e incidencia, han señalado la necesidad de desarrollar y estandarizar técnicas más sensibles para su detección. Hay varias técnicas disponibles *in vivo* e *in vitro* útiles para detectar la resistencia antihelmíntica, si bien la prueba de Reducción del Conteo de Huevos Fecales (RCH) es la más usada. La detección temprana de esta condición es un factor esencial para el control estratégico de los endoparásitos a fin de preservar la eficacia de los antihelmínticos. La presente revisión propone diferentes alternativas, químicas y no químicas, para el control de helmintos con el objeto de retardar la aparición de resistencia.

Palabras clave: Resistencia antihelmíntica, nemátodos, antihelmínticos, bovinos, ovinos, pruebas, control.

INTRODUCCIÓN

LAS INFECCIONES causadas por helmintos constituyen un problema médico y sanitario tanto en los humanos como en los animales domésticos. En el ganado estas infecciones ocasionan serias pérdidas económicas, particularmente en áreas donde se practica el pastoreo extensivo (Köler, 2001). Tradicionalmente, los productores han recurrido al uso exclusivo de sustancias químicas para el control de los endoparásitos, estrategia que ha sido ineficiente debido a la carencia de criterios técnicos para lograrlo (Brunsdon, 1980; Lanusse y Prichard, 1993; Prichard y Ranjan, 1993); entre tanto, los endoparásitos causan efectos indeseables en la salud humana y el medio ambiente (Waller, 1993). El uso exclusivo del control químico agrava más el problema debido al surgimiento del fenómeno de resistencia de los nemátodos de campo a la mayoría de los principios activos empleados universalmente (Waller *et al.*, 1995; Sangster, 1999), tornándose dicha situación insostenible desde el pun-

to de vista biológico, económico y ambiental (Jackson, 1993).

Actualmente, la resistencia es un problema que preocupa debido a su extensión progresiva, especialmente en los últimos años (Jackson, 1993b), que ha incluido la mayoría de los principios químicos usados para el control de helmintos (Craig, 1993). Así, a los pocos años de haber sido introducido el thiabendazol (1960), fue reportada la resistencia de *Haemonchus contortus* en pequeños rumiantes (Weeb, 1979). Lo anterior 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 de tipo sostenible, enmarcados en estrategias de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Waller, 1993). Los tratamientos frecuentes, la subdosificación y las rotaciones inadecuadas de los compuestos, son factores asociados comúnmente con el origen y la evolución de la resistencia

1. Programa Nacional de Salud Animal. CORPOICA-CEISA.

(Craig, 1993; Jackson, 1993; Waller *et al.*, 1988). Según Le Jambre (1997), detectar en forma temprana la aparición de la resistencia es un factor esencial para el control estratégico de endoparásitos, lo que conllevará a prácticas que conduzcan a preservar la eficacia y vida útil de estas sustancias químicas.

Esta revisión presenta el estado del conocimiento sobre la problemática de la resistencia a los antihelmínticos en el ámbito mundial y, en especial, se ocupa de los aspectos involucrados en el origen y evolución de este fenómeno, así como de las principales alternativas propuestas para su control o para retardar su aparición. Presenta, igualmente, los mecanismos de acción de los principales grupos de antihelmínticos recientemente investigados, incluyendo las bases bioquímicas de la resistencia a estas drogas.

Nemátodos

Estos endoparásitos pertenecen a la clase Nematoda, palabra que proviene del griego "nemas" o "nematos", es decir, filiforme. Son endoparásitos de forma cilíndrica, cubiertos por una cutícula quitinosa que están presentes en la mayoría de los rumiantes de diferentes regiones del mundo; su mayor o menor presencia se ve determinada por factores propios de los parásitos y por factores medio ambientales como el clima, el manejo animal y la edad de los huéspedes expuestos a praderas contaminadas. Las infecciones producidas por los endoparásitos son responsables de pérdidas económicas debidas a los costos implicados en los tratamientos, baja en la producción y/o por las muertes ocasionadas por las infecciones (Rodríguez, 1996; Echevarría, 1996a).

Entre los géneros de nemátodos más importantes que afectan a los rumiantes se encuentran: *Haemonchus spp.*, *Mecistocirrus spp.*, *Ostertagia spp.*, *Trichostrongylus axei*, *Cooperia spp.*, *Bunostomum spp.*, *Nematodirus spp.*, *Oesophagostomum spp.* y *Dictyocaulus spp.* (Echevarría, 1996a).

El ciclo de vida ocurre en dos fases: una fase parasítica (población en el huésped) y otra no parasítica o de vida libre (población en el medio ambiente externo), siendo éstas responsables de las tasas de infección y contaminación respectivamente, así como del tamaño de la población parasitaria (Thomas, 1982). La primera fase se desarrolla en los huéspedes a partir de la ingestión de larvas infectivas L3, las cuales, mediante mudas sucesivas, pasan a larvas L4 y L5 o a esta-

dos adultos, en los que las hembras tienen la capacidad de oviposición. Los huevos son excretados al medio ambiente a través de las heces de los animales, lo que inicia la fase no parasítica o fase de vida libre. Bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad los huevos se desarrollan y eclosionan, emergiendo las larvas L1, las cuales se alimentan de materia fecal y sufren mudas hasta larvas L2 y L3 (Stromberg, 1997). Estas últimas (L3), que corresponden al estado infectante, poseen una cutícula que las protege de las condiciones adversas del medio ambiente, para posteriormente migrar y trasladarse a la parte superior de los pastos en donde son ingeridas por los animales (Sievers *et al.*, 1998). La humedad es un factor importante para el traslado de las larvas L3 a las pasturas, pues la precipitación pluvial produce un efecto decisivo en su dispersión; así, se considera que una gota de agua lluvia puede transportar larvas L3 hasta 90 cm de distancia de la porción de materia fecal (Stromberg, 1997).

Epidemiología de los endoparásitos en Colombia

El control de los endoparásitos del ganado requiere de la combinación de métodos de manejo y tratamientos antihelmínticos (Brunsdon, 1980; Ketzis, 2001), que supere el tradicional uso exclusivo de sustancias químicas. Si bien estos compuestos son importantes en la prevención y tratamiento de las enfermedades parasitarias, es necesario reorientar estas prácticas hacia alternativas de control más efectivas y menos costosas, a causa del surgimiento de la resistencia a los fármacos usados y de los problemas relacionados con la toxicidad, la polución ambiental y los residuos en productos animales (Uilenberg, 1996).

Puesto que el propósito de las alternativas de control sostenibles, ya sean estratégicas o integradas, es limitar el contacto de las larvas infectivas de los nemátodos con los animales en pastoreo, se debe realizar estudios epidemiológicos de los endoparásitos como requisito para el diseño de estrategias de control sostenibles en el marco de la medicina preventiva.

En Colombia se cuenta con información epidemiológica escasa sobre los nemátodos del ganado, aunque existen algunos resultados interesantes como los de Rivera *et al.* (1983) en los Llanos Orientales, quienes encontraron que *Cooperia spp.* y *Haemonchus spp.* fueron

los endoparásitos dominantes, con incrementos poblacionales en las épocas de mayor precipitación pluvial. Resultados similares fueron reportados por Parra y Uribe (1990) en la misma región. Por otro lado, Griffiths *et al.* (1986) reportaron baja incidencia de parasitismo gastrointestinal en zonas lecheras de clima frío, siendo *Fasciola hepática* el parásito de mayor prevalencia en esa zona. En el departamento de Córdoba, Colombia, Thullner *et al.* (1993) investigaron los aspectos epidemiológicos y económicos de las infecciones con helmintos en terneros e hicieron algunos aportes epidemiológicos al observar que durante la época de verano la contaminación del pasto con larvas infectivas fue menor que en el resto del año, que el número de larvas hipobioticas en la membrana del abomaso de terneros centinelas fue baja en la misma estación y que los géneros de parásitos que predominaron fueron *Cooperia* (*C. punctata* y *C. oncophora*), *Haemonchus* (*H. placei*, *H. similis*) y *Mecistocirrus*.

Posteriormente, Márquez *et al.* (2000), en los resultados de un estudio basado en recuentos mensuales de huevos de endoparásitos en heces con realización de coprocultivos durante dos años en un hato lechero de la Sabana de Bogotá, informaron que los mayores niveles de excreción de huevos de parásitos gastrointestinales ocurrieron en las épocas de lluvias, que los recuentos de huevos fueron bajos durante todo el período y que los endoparásitos de mayor prevalencia fueron *Cooperia spp.*, *Ostertagia spp.* y *Trichostrongylus spp.*

Antihelmínticos

Los antihelmínticos constituyen actualmente el principal método de control de los nemátodos de rumiantes en el mundo (Prichard y Ranjan, 1993; Waller, 1993). Existen varios antihelmínticos (Tabla 1) con diferentes mecanismos de acción, aunque las avermectinas, los benzimidazoles y los agonistas nicotínicos son los grupos de antihelmínticos más comúnmente usados en rumiantes (Martín y Robertson, 2000; Mbarria *et al.*, 1998). Los preparados disponibles comercialmente pertenecen a los cinco grupos o familias siguientes: 1. Imidazotiazoles (levamisol y tetramisol); 2. Tetrahidropirimidinas (morantel y pirantel); 3. Benzimidazoles (thiabendazol, fenbendazol, albendazol, oxfendazol, parbendazol, cambendazol, mebendazol, flubendazol, luxabendazol, triclabendazol) y probenzimidazoles (thiofanato, febantel

y netobimin); 4. Salicilanilidas (oxiclosanida, raxofaxanide, closantel y niclosanida); 5. Avermectinas (abamectina, doramectina y moxidectina).

Imidazotiazoles. El tetramisol es una mezcla racémica de dos isómeros ópticos: los tetramisoles S(-) y R(+); no obstante, la actividad antihelmíntica de la mezcla reside exclusivamente 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, siendo también más potente que el tetramisol y con un mayor margen de seguridad; es efectivo contra los estados maduros de los parásitos gastrointestinales de rumiantes y las formas larvianas y maduras de los parásitos pulmonares, pero es poco eficaz contra larvas hipobióticas y carece de acción ovicida. La absorción del medicamento por parte de los parásitos se hace a través de la cutícula; como el levamisol es un agonista colinérgico, afecta la neurotransmisión causando un efecto espástico paralizante sobre los nemátodos (Lanusse y Prichard, 1993); además, en concentraciones altas en el nemátodo, afecta el metabolismo energético por inhibición de la fumarato reductasa, igual que los benzimidazoles (Booth y MacDonald, 1987).

Mediante técnicas electrofisiológicas se ha demostrado que la superficie de las células somáticas de los nemátodos posee receptores acetilcolino nicotínicos (nAChR), los cuales normalmente permanecen cerrados en ausencia de agentes de afinidad, pero pueden abrirse en presencia de sustancias de afinidad específica como los antihelmínticos nicotínicos; la unión de dichos compuestos con estos receptores produce despolarización y parálisis espástica de los músculos de los nemátodos, y como resultado, ocurre la expulsión de los parásitos (Köler, 2000).

La población de receptores colinérgicos nicotínicos es heterogénea, habiéndose identificado los subtipos G35, G45, G25 y G55 en el nemátodo del cerdo *Oesophagostomum dentatum*. El receptor nicotínico es un pentámero de subunidades homólogas α y β que forman un poro central o canal iónico permeable a cationes de Na y K. Cuando el levamisol se une con estos receptores, los canales iónicos se abren, aumenta la conductancia del Na y se despolarizan las membranas celulares, lo cual resulta en contracción muscular y parálisis espástica (Jackson y Coop, 2000; Martin y Robertson, 2000).

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

AMPLIO ESPECTRO		
Mecanismo de acción	Principio activo	Familia farmacológica
Fijadores de tubulina	Benzimidazoles	Cambendazol, Oxfendazol, Flubendazol, Mebendazol, Albendazol, Thiabendazol, Fenbendazol, Parbendazol, Luxabendazol, Triclabendazol.
	Probenzimidazoles	Febantel, Thiofanato, Netobimin.
Bloqueadores ganglionares	Imidazotiazoles	Tetramisol, Levamisol.
	Tetrahidropirimidinas	Morantel, Pirantel.
Potenciadores GABA	Avermectinas	Ivermectina, Abamectina,
Doramectina.	Milbemicinas	Moxidectin.
CORTO ESPECTRO		
Mecanismo de acción	Principio activo	Familia farmacológica
Desacopladores de la fosforilación oxidativa	Salicilanilidas	Cloxanida, Oxiclosanida, Raxofaxanide, Closantel.
	Sustitutos	Nitroxinil.
	Nitrofenílicos	Disofenol.
Antagonistas de acetilcolinesterasa	Organofosforados	Triclorfom, Haloxon, Naftalofos, Diclorvos

Fuente: Modificado de Echevarría, 1996b.

El levamisol se absorbe rápidamente por vía subcutánea en bovinos y alcanza sus niveles sanguíneos máximos en una hora (dos o tres por vía oral), disminuyendo a niveles no detectables a las seis horas postratamiento. El compuesto y sus metabolitos se depuran casi en su totalidad a las 24 horas, principalmente a través de la orina, aunque el moco bronquial es otra vía de excreción (Fuentes, 1992).

Existen varias formulaciones del levamisol: aditivos en el alimento, vermífugo, inyecciones subcutáneas e intrarruminal, pour-on y bolos, siendo la vía subcutánea la que confiere mayor biodisponibilidad del fármaco (Lanusse y Prichard, 1993). Se utiliza como clorhidrato y fosfato, sales que son bastante solubles en agua.

Tetrahidropirimidinas. El morantel y el pirantel son dos compuestos de este grupo cuyas formulaciones existen para

administración oral. Poseen un modo de acción similar al de los imidazotiazoles y actúan como agentes bloqueadores neuromusculares y despolarizantes, paralizando de esta manera a los parásitos, aunque se menciona que este efecto es reversible. Son altamente efectivos contra las formas adultas de los nemátodos intestinales pero no contra las formas larvianas ni los huevos. Estos fármacos 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, y dada su alta solubilidad, es una droga ideal para la liberación lenta en el medio acuoso del rumen que se formula como sal tartrato. Son compuestos bastante seguros desde el punto de vista de la bioseguridad y toxicidad, especialmente el morantel. En la oveja este fármaco se ab-

sorbe rápidamente desde el cuajar hasta la primera porción del intestino delgado, alcanzando los mayores niveles sanguíneos 4 a 6 horas después de ser administrado (Booth y McDonald, 1987).

Benzimidazoles y probenzimidazoles. El desarrollo de los benzimidazoles inició en los años sesenta con el descubrimiento del thiabendazol, lo que marcó una nueva era en el tratamiento de los parásitos gastrointestinales, pues se abandonó el uso de la fenotiacina por productos de amplio espectro y mínima toxicidad (Campos *et al.*, 1992; Craig, 1993). Los primeros benzimidazoles, como el thiabendazol y el parabendazol, eran de espectro reducido, pero el desarrollo de la industria farmacéutica condujo al descubrimiento de otros compuestos de mayor espectro y potencia que actúan contra nemátodos gastrointestinales, pulmonares, céstodos y tremátodos (Campos *et al.*, 1992). La estructura química de los benzimidazoles se basa en el 1,2 diamino benceno; las diferencias entre los compuestos de este grupo radican en la modificación del carbono 5 del anillo bencénico, lo cual da lugar a diferencias en la farmacocinética y espectro de los mismos. Los probenzimidazoles como el febantel, el tiofanato y el netobimín son prodrugs inactivas que se convierten enzimáticamente en benzimidazoles etil o etil carbamatos una vez que son absorbidos por el huésped (Lanusse y Prichard, 1993).

Una característica importante de los benzimidazoles es su baja solubilidad en agua, lo que afecta su eficacia especialmente en rumiantes, en los cuales se absorben sólo pequeñas cantidades en el tracto gastrointestinal, con excepción del fenbendazol, el oxfendazol y el thiabendazol. Esto hace que la absorción y la biotransformación sean factores importantes que pueden afectar la eficacia de los benzimidazoles (Lanusse y Prichard, 1993).

El mecanismo de acción y la estructura química de los benzimidazoles y probenzimidazoles es similar, pero el porcentaje de efectividad contra algunos parásitos es diferente para cada uno de ellos debido a que el metabolismo, las concentraciones y tiempo de permanencia en sangre y abomaso de los huéspedes son distintos (Campos *et al.*, 1995). Las dos acciones principales de estos compuestos son: 1) inhibición del sistema enzimático de la fumarato reductasa, la cual es vital para la producción de energía en la mayoría de los parásitos (Echevarría, 1996b; Gibson, 1980) y, 2) fijación a la tu-

bulina de los parásitos, lo que impide la unión de las subunidades de proteína α y β de la tubulina y altera la función y estructura de los microtúbulos en las células intestinales de los nemátodos (Jackson, 1993). Los microtúbulos son estructuras intracelulares con varias funciones relacionadas con el movimiento de los cromosomas durante la división celular, la absorción de nutrientes, la motilidad y el soporte estructural de la célula, el movimiento de partículas intracelulares, la exocitosis y la comunicación intercelular.

Salicilanilidas. El closantel es un ácido débil de alto peso molecular, lipofílico y de espectro amplio debido a su gran afinidad por las proteínas plasmáticas; es un compuesto de vida media, con eliminación muy larga por su baja depuración renal y metabólica (15 días en ovejas). Administrado oralmente es de baja absorción, por cuanto su mayor biodisponibilidad ocurre cuando es suministrado parenteralmente (Lanusse y Prichard, 1993). Entre los representantes de este grupo, el closantel es el único que se considera como droga de amplio espectro porque es altamente eficaz contra *Haemonchus contortus*, *Fasciola hepática*, *O. ovis* y algunos artrópodos; su eficacia contra *H. contortus* obedece a su afinidad por las proteínas plasmáticas la cual es superior a 99%. La principal vía metabólica del closantel es una monodeiodinación reductiva hepática que forma dos isómeros monoyodoclosantel, únicos metabolitos recuperados en las heces de los animales tratados.

Avermectinas y milbemicinas (AVM y MBM). Los compuestos del grupo de 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, las cuales contienen proporciones diversas de estos pares homólogos; así, la abamectina (avermectina B1) contiene 80 % de avermectina B1a y 20 % de avermectina B1b (Lanusse y Prichard, 1993). Más recientemente se han desarrollado las milbemicinas (moxidectin), las cuales, igual que las avermectinas, constituyen un grupo de fármacos con efectos nematocidas, insecticidas y acaricidas extremadamente potentes y de actividad persistente.

Las AVM y MBM son agonistas de gran afinidad sobre las subunidades de los canales iónicos selectivos a cloro de los nemátodos y artrópodos. Los canales están constituidos por cinco subunidades

proteicas, de las cuales las subunidades α , β y δ se recombinan para formar el pentámero, siendo el glutamato (Glu) el responsable de la ligazón en estos receptores, por lo que éstos son denominados receptores GluCl, los cuales están localizados principalmente en las células musculares somáticas, en la faringe y el útero, y en sus neuronas asociadas. Entonces cuando estos fármacos se unen a los receptores la permeabilidad de la membrana al cloro aumenta, originándose una hiperpolarización de la membrana de la célula muscular y/o neuronal (Martin, 1996), afectando, en consecuencia, la capacidad de alimentación y fecundidad del parásito, lo mismo que la habilidad para mantenerse en sus sitios de localización por parálisis flácida del parásito (Figura 1).

Las ivermectinas son bastante eficaces contra los estados larvarios y maduros de nemátodos gastrointestinales y *Diocytocaulus viviparus* con porcentajes de reducción de los niveles de excreción de huevos en heces superiores al 96% (Jones *et al.*, 1993; Conder, 1998). Debido a que las ivermectinas se excretan principalmente a través de las heces (Lanusse y Prichard, 1993), pueden retardar la degradación de los bolos fecales, alterando de esta manera la microfauna fecal benéfica (Sommer y Steffansen, 1993; Strong, 1993).

Antihelmínticos y medio ambiente

Poca información existe sobre el impacto que los antihelmínticos, o sus metabolitos, tienen sobre el medio ambiente. Sin embargo, a partir de 1980 se han realizado trabajos que evidencian los efectos negativos que tienen en el ambiente algunos antihelmínticos como la fenotiazina que, aunque en desuso, ejercía efectos adversos sobre el crecimiento del trébol, lo que se traducía en una reducción del forraje y, por tanto, en una disminución de la producción (Waller, 1993).

En relación con los benzimidazoles, se ha sugerido que éstos no son totalmente inocuos, habida cuenta del efecto residual indeseable que tienen sobre algunos hongos saprofitos que invaden las heces, especialmente el fenbendazol y el oxfendazol, debido a que los mismos son excretados en gran cantidad en las heces de los rumiantes (Waller, 1993).

De los antihelmínticos disponibles y actualmente usados por los productores, son las ivermectinas/milbemicinas las que probablemente ejercen más efectos negativos sobre el medio ambiente, espe-

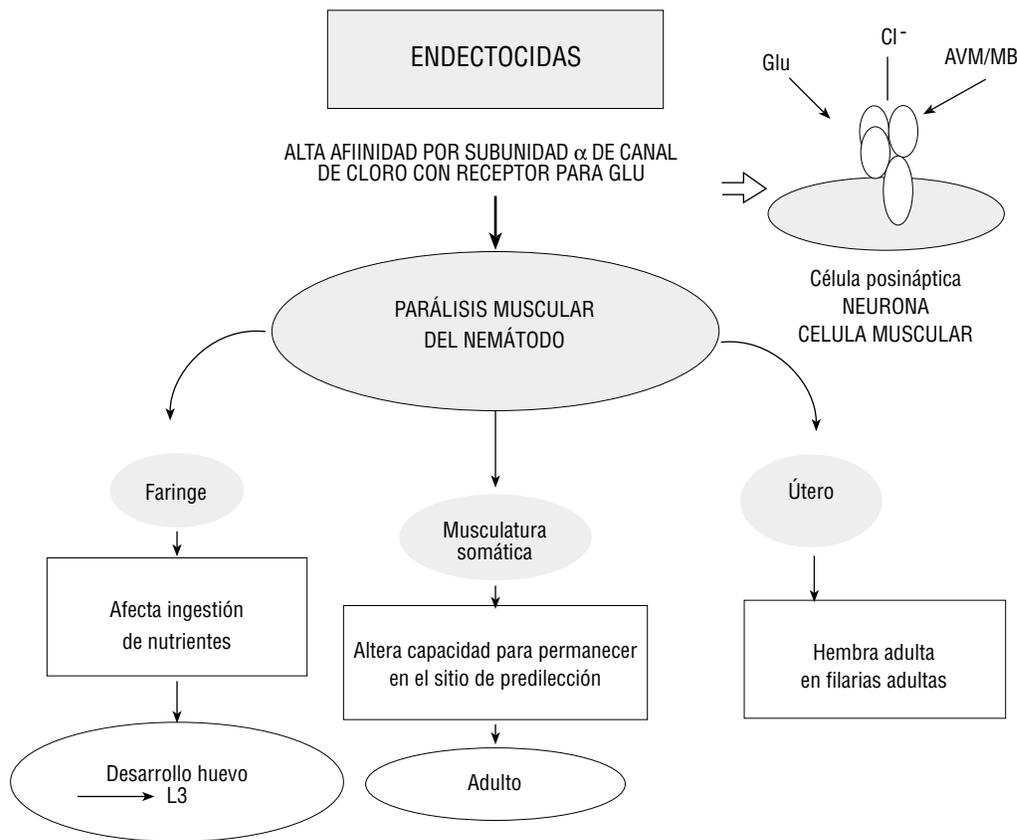


Figura 1. Esquema del mecanismo de acción para los fármacos endectocidas en nemátodos. Tomado de Mottier y Lanusse (2002)

cialmente en las poblaciones de insectos benéficos asociados al estiércol, principalmente en sus formas larvianas (Halley *et al.*, 1993; Uilenberg, 1996). Diferentes vías de administración de estas drogas conducen a variadas concentraciones en las heces, las cuales, a su vez, influyen las respuestas de los organismos no objetivos, efectos que van desde toxicidad aguda en larvas y adultos hasta disrupción de la metamorfosis, e incluso, a la interferencia de la reproducción. Así, por ejemplo, se ha demostrado que algunos dípteros son particularmente sensibles a estos efectos residuales en las heces de los rumiantes, observándose desde mortalidad larval hasta el desarrollo de anomalías en los estados adultos (Strong, 1993).

Otros experimentos realizados para ver el efecto sobre los escarabajos *Ontophagus* y *Aphodius* en estiércol de vacas y ovejas tratadas con organosfosforados, benzimidazoles, levamisol e ivermectinas, han demostrado los efectos deletéreos de las ivermectinas sobre esa microfauna benéfica, más no así con el resto de compuestos usados en esas pruebas (Waller, 1993).

Strong *et al.*, (1996) demostraron los efectos tóxicos de ivermectina excretada en el estiércol sobre algunas familias de insectos colonizadoras de heces en un experimento realizado con tres grupos de bovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. Observaron que en el estiércol de animales tratados con ivermectina no hubo desarrollo del díptero *Cyclorhapha sp.* y las larvas del díptero *Scarabaeidae sp.* fueron significativamente menores y con desarrollo inhibido que en los grupos tratados con fenbendazol y control no tratado.

Independientemente del tipo de fármaco utilizado, el impacto ambiental que la quimioterapia antiparasítica tiene sobre el microambiente depende de los efectos deletéreos que el fármaco, o sus metabolitos, tienen sobre la microfauna en las excretas, de la cantidad del principio activo excretado, del tiempo de eliminación y de la estabilidad de los residuos ecotóxicos (McKellar, 1997).

Origen de la resistencia

El descubrimiento de nuevos compuestos químicos para el control de helmintos en los animales ha sido particu-

larmente intenso a partir de la introducción del thiabendazol (Lanusse y Pritchard, 1993), situación que produjo cambios radicales y profundo impacto en el control del parasitismo gastrointestinal, dado el alto nivel de eficacia de estos compuestos (Echevarría, 1996a; Waller, 1993). Sin embargo, un fenómeno interesante ha ocurrido con los nemátodos gastrointestinales, particularmente de los pequeños rumiantes, y es el que algunas especies de helmintos evaden los efectos letales de determinados antihelmínticos, fenómeno conocido como 'resistencia antihelmíntica'. Actualmente, la resistencia a los medicamentos antihelmínticos constituyen una amenaza importante para el control de los parásitos del ganado en el mundo (Dobson *et al.*, 1996)

La resistencia es definida como la capacidad que tiene una fracción de una población para tolerar dosis tóxicas de sustancias químicas que son letales para otras poblaciones de la misma especie (Craig, 1993; Jackson, 1993;), siendo la heredabilidad de la resistencia la característica más importante de este fenómeno (Le Jambre, 1997; Stear *et al.*, 1999); proceso en el cual la presión ejercida por

la quimioterapia elimina selectivamente los nemátodos susceptibles de la población genéticamente heterogénea, produciéndose un incremento de individuos portadores de genes que confieren resistencia a los medicamentos y son transmitidos a la próxima generación (Weeb, 1979, Köler, 2001).

La resistencia puede ser intrínseca o adquirida (Mottier y Lanusse, 2002). En la primera un parásito que es naturalmente insensible a una droga, debido a la ausencia de receptores o a la imposibilidad del fármaco para entrar al sitio de acción de la misma, como ocurre en la resistencia de los tremátodos y céstodos a los endectocidas. La resistencia adquirida se presenta en los parásitos que inicialmente son susceptibles a la acción terapéutica de un fármaco, y posteriormente dejan de serlo luego de la ocurrencia de modificaciones genéticas que son heredables de generación en generación.

Las principales modificaciones genéticas que operan en el proceso de la resistencia adquirida son (Mottier y Lanusse, 2002):

1.) Mutación. El ADN de la célula susceptible es alterado induciendo modificaciones en la producción de un componente celular o en la función normal de éste, impidiendo que la droga produzca su acción farmacológica. La mutación siempre selecciona a la población resistente y, gracias a esto, las generaciones posteriores provendrán de las resistentes.

2.) Amplificación génica. Ocurre por el aumento exagerado 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 génica. La(s) célula(s) de un parásito susceptible adquiere(n) material genético de otro (ambiente, bacteria) que incorpora en su cromosoma, induciendo resistencia a una droga o grupos de drogas.

Dos conceptos que, aunque similares, deben diferenciarse son: la tolerancia y la efectividad:

Tolerancia: Es la habilidad natural que tiene una población de helmintos para sobrevivir al primer contacto con un antihelmíntico (Weeb, 1979). Esta puede variar en poblaciones de la misma especie, dependiendo de la droga usada y del método de aplicación.

Efectividad: Es la capacidad que tiene un compuesto químico determinado para

producir un efecto biológico (mortalidad, parálisis, etc.) usado en determinada dosis. La efectividad es una característica inherente de la sustancia y, básicamente, depende de su concentración.

El primer caso de resistencia antihelmíntica en el mundo fue reportado por Drudge y otros investigadores que en 1954, informaron sobre la existencia de una cepa resistente de *H. contortus* a una formulación de fenotiocina. Esta resistencia fue reconocida como una carga parasitaria residual y recuento de huevos en materia fecal posterior al tratamiento (Smith-Buijs y Borgsteede, 1986). Posteriormente, a los pocos años de haber sido introducido el thiabendazol, se informó de nuevas observaciones sobre resistencia a este benzimidazol en cepas de *H. contortus*, *Teladorsagia* y *Trichostrongylus* (Craig, 1993).

La resistencia, entonces, no es un problema nuevo sino, por el contrario, un problema antiguo que han venido enfrentando los países con un alto grado de desarrollo de la industria ovina especialmente, como Australia (Campos *et al.*, 1995). Dependiendo de si la resistencia ocurre para una o más drogas de igual o diferente modo de acción se presentan los siguientes tipos de resistencias (Craig, 1993):

Resistencia paralela: Se presenta cuando los individuos de una población resistente a una sustancia química son también resistentes a otro compuesto que tiene similar mecanismo de acción. Es el caso de la resistencia al parbendazol y fenbendazol que puede presentar *H. contortus*.

Resistencia cruzada: A diferencia de la anterior, ésta se presenta cuando involucra sustancias químicas de modo de acción diferentes; un ejemplo de ésta es la resistencia al levamisol e ivermectina que puede darse en *O. ostertagi*.

Resistencia múltiple: Se presenta cuando los parásitos son resistentes a más de dos grupos de antihelmínticos diferentes. La misma es resultado de la selección independiente para cada grupo o como resultado de resistencia cruzada. Al respecto, Mwamachi *et al.*, (1995) en dos experimentos llevados a cabo con cabras y ovejas en Kenya, encontró resistencia a los antihelmínticos fenbendazol, ivermectina y levamisol en cepas de *Trichostrongylus* spp., *H. contortus* y *Oesophagostomum* spp.

La resistencia a los antihelmínticos, hasta ahora, ha sido documentada casi exclusivamente en pequeños rumiantes

(Jackson, 1993b; Taylor *et al.*, 1990b; Scott y Armour, 1991), y los reportes de resistencia en nemátodos de bovinos son bastante reducidos en comparación con el marcado contraste que existe con los ovinos y caprinos. Esta amplia diferencia entre las dos especies probablemente obedezca a diferentes razones (Williams, 1997):

1. Diferencias genético-fisiológicas entre estas dos especies deben ser tenidas en cuenta para entender la complejidad de estas diferencias, pues es sabido la pobre habilidad de los pequeños rumiantes para regular los nemátodos gastrointestinales (Jackson y Coop, 2000). Así, por ejemplo, las cabras desarrollan menos niveles de inmunidad a los nemátodos, requiriendo, tanto adultos como jóvenes, tratamientos para el mantenimiento de su salud (Coles, 2002). Igualmente, la biodisponibilidad de los antihelmínticos puede ser limitada, especialmente en cabras, debido a la influencia del by-pass del rumen y la relativamente corta vida media de los antihelmínticos de amplio espectro.

2. La menor frecuencia de tratamientos en bovinos y la ausencia de tratamientos en animales adultos (Coles, 2002), en comparación con lo que ocurre en ovinos, se postulan como factores que explican también el fenómeno. Situación que permite mantener las pasturas con nemátodos provenientes de animales no tratados, aumentado con ello la población refugio en las praderas.

3. Diferencias en los sistemas de pastoreo entre las dos especies (Coles, 2002).

4. Contrastes en el tamaño y estructura de los compactos pellets fecales de ovino y caprinos y las mayores porciones de los bolos fecales de bovinos, que afectan probablemente la dinámica y concentración de larvas infectivas de las poblaciones resistentes o susceptibles a las drogas en las praderas. En otras palabras, es posible que la protección que ofrece la cubierta de las heces a los estados de vida libre de los nemátodos de bovinos, sin que sean afectados por los antiparasitarios (mayor población en refugio), facilite una menor presión de selección y un desarrollo más lento de la resistencia. En este sentido la población refugio está siendo considerada actualmente como el factor más importante en el desarrollo de la resistencia en rumiantes.

5. En especies pequeñas como las cabras, las larvas hipobióticas constituyen una gran parte de la infrapoblación, ha-

ciendo éstas un aporte significativo a los procesos de selección. La relativa longevidad de estas larvas conducen a exposiciones frecuentes a las drogas dando como resultado una población hipobiótica resistente (Jackson y Coop, 2000).

Sin embargo, algunos reportes sobre resistencia de nemátodos de bovinos al oxfendazol, particularmente de *T. axei* y de *C. oncophora* se han conocido en los últimos 10 años (Williams, 1997), así como resistencia de *H. contortus* al oxfendazol y albendazol (Pinheiro y Echevarría, 1990). Igualmente, son conocidas las informaciones sobre resistencia de *O. ostertagi* al levamisol y al morantel (Williams, 1991).

Una consecuencia importante de las cepas resistentes son las implicaciones epidemiológicas y económicas que el fenómeno trae consigo, particularmente en lo relacionado con la patogenicidad y la supervivencia de estas cepas en las praderas. Así, trabajos realizados por Kelly y otros autores en 1978, citados por Scott y Armour (1991), demostraron incrementos en la tasa de establecimiento, producción de huevos, patogenicidad y una mayor supervivencia de larvas en las praderas de una cepa de *H. contortus* resistente a benzimidazoles. Sin embargo, Scott y Armour, (1991) en un estudio realizado con corderos para ver el efecto del desarrollo de la resistencia a benzimidazoles, salicilanilidas e ivermectina sobre la patogenicidad y supervivencia de *H. contortus* no encontraron diferencias de estas variables usando cepas susceptibles y resistentes en dos grupos de corderos.

Desde el punto de vista económico la resistencia reviste importancia notable para los laboratorios farmacéuticos, dados los altos costos que implican la investigación y el descubrimiento de nuevas moléculas para nuevos fármacos (Waller, 1993; Williams, 1997), y para los ganaderos por los incalculables costos económicos generados por las drogas usadas para el control parasitario y por los efectos del parasitismo sobre los bovinos (Campos *et al.*, 1992).

Genética de la resistencia

Si bien la coexistencia de diferentes factores como la frecuencia de tratamientos, las subdosificaciones y sobredosificaciones, el diferente potencial biótico de las especies parasitarias, entre otros (Köler, 2001), se requieren para el surgimiento y evolución de la resistencia, ésta está regida esencialmente por principios

genéticos, los cuales pueden ser explicados por la teoría de la evolución (Le Jambre, 1997): según ésta, la población original de parásitos contiene pocos individuos que poseen la habilidad para supervivir a un antihelmíntico. Debido a que la droga elimina a los susceptibles, la próxima generación de parásitos consistirá en una minoría resistente, la cual transmitirá esta habilidad de supervivencia a su progenie, la 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 es gobernada por varios genes (resistencia poligénica), éstos necesitan actuar juntos para poder expresar la característica, y la resistencia tardará más tiempo en expresarse.

La característica más importante de la resistencia es su naturaleza genética, más que toxicológica o bioquímica, y los nemátodos que poseen genes de resistencia son seleccionados por la presión ejercida por los antihelmínticos usados (presión de selección), reconociéndose que los genes resistentes existen a bajas frecuencias antes de ser usados los compuestos (Jackson, 1993b). La presión de selección es la capacidad de los antihelmínticos para escoger ciertos parásitos de una población, estando determinada por la dosis del compuesto y por la población parasitaria expuesta a la droga. La presión de selección es alta cuando el tratamiento deja apenas algunos sobrevivientes y cuando hay pocos estados de vida libre que escapan a la exposición. Por el contrario, es baja cuando una gran porción de la población de larvas no entra en contacto con compuestos químicos (Sáenz *et al.*, 1991).

Las técnicas de la biología molecular, que han venido descubriendo aspectos como el número de alelos de resistencia, grado de dominancia, estado de resistencia de los genes y su grado de integración y mecanismos de la resistencia, son las herramientas que permitirán dilucidar en el futuro el número de genes involucrados en ella, (Craig, 1993; Jackson, 1993; Le Jambre, 1997). Estudios de cruzamiento regresivo llevados a cabo con *T. colubriformis* indican que la resistencia al levamisol es una característica recesiva ligada al sexo gobernada por un gen o grupo de genes. La resistencia a las ivermectinas es una característica dominante gobernada por varios genes (Martín *et al.*, 1998). La resistencia a los ben-

zimidazoles es una característica incompleta dominante/incompleta recesiva.

Desarrollo de la resistencia

Es aceptado que la resistencia ocurre como un fenómeno preadaptativo de los parásitos, en los cuales el gen o genes que confieren resistencia existen ya en un rango fenotípico de las especies. Así, la introducción y el continuo uso de los antihelmínticos confiere cierta ventaja de supervivencia a aquellos nemátodos portadores de genes de resistencia (Jackson, 1993).

El surgimiento y la velocidad de desarrollo de la resistencia es un fenómeno complejo que involucra factores internos (propios del parásito) y externos u operacionales (antrópicos, controlados por el ser humano).

Dentro de los primeros se encuentran las características genéticas de los parásitos como el tipo de heredabilidad, dominancia, nivel de resistencia y la habilidad biológica relativa, y características biológicas como el potencial biótico, intervalo entre generaciones, estadio expuesto a la droga y la proporción de la población en refugio (Echevarría, 1996a; Jackson y Coop, 2000). La población refugio es la proporción de la población parasitaria que no es expuesta a una medida de control dada, escapando, por tanto, a la selección para resistencia (FAO, 2002). El tamaño del refugio o "suprapoblación" (Jackson, 1993) es importante porque determina la tasa de desarrollo de la resistencia habida cuenta de que es en ésta donde los individuos mantienen sus caracteres genéticos de susceptibilidad, por no estar en contacto con las drogas. Por el contrario, los parásitos adultos dentro del huésped (infrapoblación) que tienen contacto con los antihelmínticos, seleccionan sus genes de resistencia cuantas veces tenga contacto con los vermífugos.

Recientemente, se ha sugerido que el fenómeno del refugio juega un papel mucho más importante en la selección para resistencia antihelmíntica que otros factores comúnmente mencionados como la frecuencia de tratamientos y las subdosificaciones de los mismos (Van Wyk, 2001).

Cuando el refugio es numeroso, pocas larvas llegan a ser ingeridas por los huéspedes, permaneciendo el resto de ellas en las praderas en espera de un nuevo huésped. Las larvas que no fueron ingeridas mantienen sus características de susceptibilidad, de tal manera que en futuras infecciones se mezclan los genes de susceptibilidad provenientes de las lar-

vas que quedaron en el 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 nemátodos resistentes (Saenz *et al.*, 1991).

Por el contrario, cuando el refugio es pequeño, gran parte o todas las larvas serán ingeridas por los huéspedes en un período corto de tiempo, seleccionando sus genes al tener contacto con los antiparasitarios y desapareciendo casi en su totalidad el refugio, lo que se traducirá en un rápido desarrollo de la resistencia. Un refugio pequeño es el que existe en una pradera en la cual el pasto es consumido en su totalidad por los huéspedes antes de pasar a un nuevo potrero (Saenz *et al.*, 1991). Este fenómeno puede ocurrir en regiones o países donde los antihelmínticos son suministrados en épocas de sequía, cuando el tamaño de la población refugio puede estar drásticamente reducida, incrementándose la presión de selección debido a que los parásitos resistentes sobrevivientes tienen la oportunidad de repoblar en las praderas que están mínimamente pobladas.

La selección para resistencia también se desarrolla rápidamente cuando el potencial biótico de los nemátodos gastrointestinales es alto, como en *H. contortus*, pudiendo, pequeñas poblaciones de parásitos resistentes producir grandes poblaciones en corto tiempo dado su alto grado de fecundidad, especialmente si el clima es favorable para las formas no parasíticas (Craig, 1993).

De otro lado, la tasa de desarrollo de los procesos de selección puede también estar influenciada por el número de genes involucrados en los mecanismos de resistencia y si ellos son heredados de modo dominante. La resistencia se desarrollará más rápidamente si es monogénica y si es heredada como una característica dominante (Jackson y Coop, 2000). Resistencia monogénica ha sido reportada en *H. contortus* resistente a las ivermectinas y en cepas resistentes de *T. Colubriformis* al levamisol, en la cual es, además, una característica ligada al sexo.

Los factores externos u operacionales tienen que ver con el mecanismo de acción de las drogas, su grado de eficacia, frecuencia de tratamientos, dosis, rotaciones y formas de manejo animal.

Se considera que la frecuencia de los tratamientos contribuye en alto grado al rápido desarrollo de resistencia (Waller

et al., 1995). El uso de antihelmínticos efectivos para eliminar todos los parásitos, excepto aquellos que son resistentes, si son frecuentemente usados, garantiza que sean solo éstos los parásitos presentes, debido a que la presión de selección de estos parásitos se incrementa. Lo mismo puede afirmarse cuando se hace uso de subdosificaciones para eliminar parásitos, produciendo también presión de selección de éstos en la medida en que permite la supervivencia de los heterocigotos, y asegurándose la reinfección en los huéspedes por la progenie de sobrevivientes, fenómeno que adquiere especial importancia cuando los animales son trasladados a potreros libres de L3 (Craig, 1993).

Con relación a la frecuencia de los tratamientos, es común observar en los ganaderos la tendencia a incrementar las dosis, frecuencias y rotaciones de los antihelmínticos ante el afán por lograr la mayor eficacia de los mismos, consiguiendo pasar de un estado de resistencia paralela a uno de resistencia múltiple, agravando la problemática antihelmíntica. Los movimientos estratégicos que incluyen rotación de potreros mínimamente contaminados pueden incrementar la velocidad de desarrollo de la resistencia. Igualmente, en regiones donde los tratamientos se hacen en los extremos climáticos, los cuales reducen el tamaño de la suprapoblación alterando la razón infrapoblación/suprapoblación, se ha demostrado un incremento de la velocidad de desarrollo (Jackson, 1993).

Cuando los factores coinciden es posible la selección de individuos resistentes, fenómeno que ocurre a través de las siguientes fases o etapas (Jackson, 1993b):

1. Una fase inicial de susceptibilidad antihelmíntica en la cual la frecuencia de resistencia individual en la población es baja.

2. Por la continua exposición de los parásitos a la droga, se desarrolla una fase intermedia en la cual la frecuencia de la resistencia individual de los heterocigotos en la población se incrementa.

3. Finalmente, por la permanencia de la presión de selección se desarrolla una tercera fase, resultando una etapa de resistencia individual de homocigotos que predominan en la población

La selección de resistencia será más rápida cuando los individuos heterocigotos y homocigotos sobreviven al tratamiento, debido a subdosificaciones, las cuales posibilitan la supervivencia de los

primeros, pudiendo jugar un papel en la influencia de la tasa de desarrollo de resistencia. Si las subdosificaciones incrementan dicha tasa, podría pensarse que la sobredosificación retardaría su desarrollo, pero infortunadamente no hay evidencias de tal suposición. Las sobredosificaciones no solo tienen obvias desventajas en términos de residuos tisulares, toxicidad y costos, sino que también han dado muestras de pocos beneficios en términos de eficacia y disponibilidad sistémica (Jackson, 1993).

La resistencia surge, entonces, como resultado de la necesidad que tiene el ser humano de controlar las enfermedades animales, siendo un fenómeno ineludible que hay que enfrentar por el frecuente uso de sustancias antihelmínticas (Campos *et al.*, 1992).

Prevalencia de la resistencia antihelmíntica

Una perspectiva global sobre el estado actual de la resistencia da una idea aproximada de la magnitud del problema, especialmente en los últimos años. En Europa, la resistencia a los antihelmínticos ha estado asociada al grupo de los benzimidazoles en cabras y ovejas, y en menor escala en caballos, pareciendo todavía ser bastante eficaz el grupo de antihelmínticos levamisol/morantel, aunque hay informes de resistencia a este grupo en cerdos (Waller *et al.*, 1988). En relación con las ivermectinas, existen igualmente reportes que informan sobre el surgimiento de la resistencia a este grupo de fármacos, especialmente en Escocia. Así, Jackson *et al.*, (1993), en un estudio para probar la eficacia del levamisol realizado en corderos artificialmente infectados con una cepa de *Teladorsagia circumcincta* resistente al fenbendazol, ivermectina y el fenbendazol, encontró la primera evidencia de resistencia a la ivermectina en Europa y el primer caso de resistencia múltiple en Gran Bretaña. En Africa existe resistencia antihelmíntica a los tres principales antihelmínticos de amplio espectro con altos niveles, además, de resistencia múltiple en la mayor parte de los países de este continente, especialmente en Kenia y Suráfrica. Según Waller *et al.* (1995) el 90% de 60 predios evaluados tuvieron cepas de parásitos resistentes a compuestos por lo menos de un grupo de antihelmínticos, y el 40% de los mismos evidenció resistencia a tres o más de los cinco grupos probados (benzimidazol, levamisol, salicylanilida, ivermectina).

En Australia, el problema de la resistencia a los benzimidazoles, levamisol/morantel, lactonas macrocíclicas y elevados niveles de resistencia múltiple tornan crítica la situación en este país, llegándose a reestructurar los planes de control parasitario (Waller *et al.*, 1995) o, incluso, al abandono de la actividad de la industria ovina por las fallas en el control de los helmintos. Por la poca importancia que la industria de pequeños rumiantes tiene en Norteamérica, en dicho país son escasos los reportes sobre resistencia a los antihelmínticos, salvo algunos pocos realizados en los Estados de Louisiana y Florida en los que se informa sobre altos niveles de resistencia a los benzimidazoles y las ivermectinas (Waller, 1997).

La preocupante situación sobre la resistencia a los antihelmínticos en nemátodos de ovinos se torna crítica y alarmante en algunos países suramericanos (Waller *et al.*, 1996; Waller, 1997) como Argentina (Eddi *et al.*, 1997), Brazil (Farias *et al.*, 1997) Paraguay (Maciel *et al.*, 1996) y Uruguay (Nari *et al.*, 1996), países que poseen la doble desventaja de tener los más altos y extensos niveles de resistencia a los antihelmínticos a nivel mundial, creyéndose incluso que los grupos más comúnmente usados, como los benzimidazoles y levamisol/morantel, han llegado al fin de su efectividad quimioterapéutica.

Echevarria y Alfredo (1989) en un experimento realizado en 31 rebaños de ovinos en Brasil, para determinar la eficacia de un benzimidazol y del tetramisole, encontraron que el 38% de los rebaños evaluados mostraban resistencia al thiabendazol, el 25.8% al levamisol y 19.4% evidenciaron resistencia múltiple, siendo *Haemonchus spp.* el parásito sobreviviente al tratamiento con thiabendazol y *Trichostrongylus spp.* y *Ostertagia spp.* los que sobrevivieron al tratamiento con tetramisole.

En relación con los bovinos en Sur América, Pinheiro *et al.* (1990) evaluando la susceptibilidad de *Haemonchus spp.*, mediante tratamientos con oxfendazol y fenbendazol en terneros de seis a diez meses de edad, encontró porcentajes de reducción del 60% y 81%, respectivamente, evidenciándose la presencia de resistencia en este helminto. Igualmente, Sangster (1990) informa de resistencia a las ivermectinas en cepas de *Cooperia oncophora* de bovinos.

En el mismo continente, Paiva *et al.* (2001, citado por Anziani, 2002) informa de la presencia de resistencia a la iver-

mectina por *H. placei* y *C. punctata*, en Brasil. En Argentina, a partir de 2000 se detectaron los primeros casos de resistencia de nemátodos de bovinos a las ivermectinas (ivermectina y doramectina), en los cuales se identificó a *C. pectinata* en el primer caso, y *C. oncophora* en el segundo. Desde esa fecha, es probable que el fenómeno de la resistencia se haya expandido de forma alarmante en ese país debido a los antecedentes de tratamientos frecuentes con avermectinas en ganado de carne.

La Tabla 1 muestra la crítica situación que muestra la industria ovina de estos países.

De otro lado, existen reportes sobre la presencia de resistencia de *Faciola hepática* en bovinos y ovinos. De esta manera, el primer reporte de resistencia de este parásito al hexaclorofeno se hizo en los años 1967 y 1968. Posteriormente, se ha informado de la presencia de resistencia al rafoxanide, y más recientemente, en 1998 y 1999, Moll *et al.* (2000), señalan la aparición de resistencia de *F. Hepática* al triclabendazol en bovinos y ovinos de una región de Holanda.

Aspectos bioquímicos de la resistencia

Los cambios genéticos que conducen a resistencia conllevan una serie de modificaciones bioquímico-moleculares determinantes en la disminución del efecto de una droga en el parásito resistente (Figura 2), constituyendo las bases farmacológicas a través de las cuales se genera el proceso de resistencia. Entre éstas se destacan (Mottier y Lanusse, 2002):

- 1.) Cambios estructurales y/o funcionales de las células que modifican la captación de la droga al sitio de acción, produciendo modificaciones en su metabolismo (incremento/inactivación y/o eflujo celular) y alterando la capacidad de acumulación intracelular de la droga.
- 2.) Alteración de sistemas enzimáticos necesarios para la acción farmacológica de la droga.
- 3.) Disminución del número o afinidad de los receptores, afectando la unión del fármaco al receptor y, por tanto, el efecto farmacológico.
- 4.) Variaciones en diferentes procesos celulares que contrarrestan el efecto de la droga.

Tabla 1. Resistencia antihelmíntica en parásitos nemátodos de ovejas en Suramérica

País	BZD	LEV	Comb	IVM (inyec)	IVM (oral)	CLOS
Argentina (65)*	40%	22%	11%	—	6%	—
Brazil (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 benzimidazol; LEV, grupo levamisol/morantel; Comb, combinación BZD más LEV; IVM, grupo lactona macrocíclica; CLOS, closantel.

Fuente: Waller, 1997.

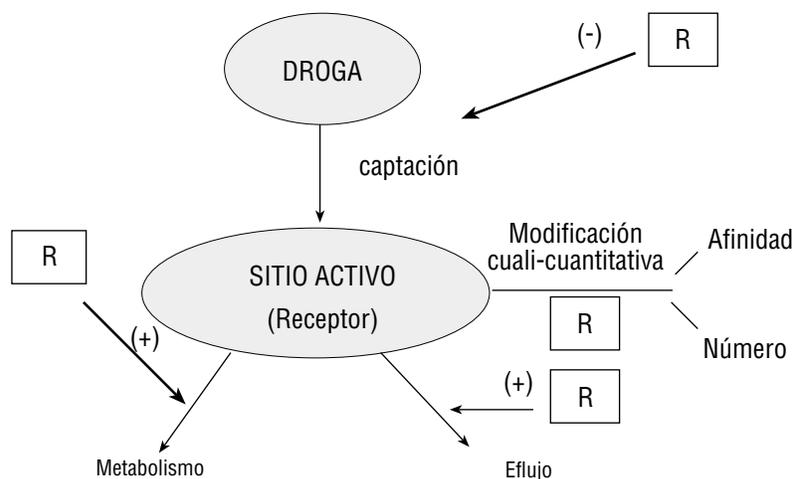


Figura 2. Representación esquemática de los mecanismos celulares cuyo incremento (+), reducción (-) o modificación de actividad, resultan en el desarrollo de resistencia \bar{R} a un fármaco determinado. Tomado de Mottier y Lanusse (2002).

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 ha implicado el uso de técnicas electrofisiológicas, siendo relevantes los avances que recientemente se han obtenido sobre estas sustancias químicas. En este contexto, resultados de algunos estudios usando *Caenorhabditis elegans* y parásitos *trichostrongylidos* de ovejas han demostrado que las avermectinas ejercen su acción terapéutica mediante la apertura de los canales de ion (receptores) encontrados únicamente en los insectos y en los nervios y músculos de los nemátodos (Martin *et al.* 1998; Köler, 2001; Martin y Robertson, 2000), razón por la cual estos fármacos ejercen sus efectos selectivamente tóxicos sobre los nemátodos y no sobre el huésped. Los antihelmínticos nicotínicos actúan abriendo los canales de ion acetilcolina-activados.

Martin *et al.* (1998) y Martin y Robertson (2000) reportan que los genes *avr-14* y *avr-15* están involucrados en la resistencia a las avermectinas, mientras que los genes *lev-1*, *unc-38* y *unc-29* están asociados con resistencia al levamisol. Estos genes codifican las subunidades de proteína de los canales de ion (sitios blanco de los antihelmínticos), sugiriéndose que la resistencia consistirá en una modificación de los sitios blanco de estas sustancias químicas. En otras palabras, la expresión de resistencia, particularmente al levamisol, se debe a la alteración o reducción en el número de receptores colinérgicos o en la menor afinidad de estos receptores en los nemátodos levamisol-resistentes (Figura 3), fenómeno que parece ser una característica ligada al sexo con un gen o grupo de genes involucrados (Craig, 1993; Jackson, 1993; Prichard, 1994).

En relación con las AVM/MBM, la resistencia a éstas puede estar asociada a modificaciones en el receptor GluCl y a la expresión aumentada de la glicoproteína P de membrana (Gp P), la cual puede impedir que la molécula de estos compuestos químicos alcancen las concentraciones activas en el receptor GluCl del parásito (Figura 4).

Se ha reportado también que la resistencia a las ivermectinas está relacionada con la disminución de la permeabilidad de la cutícula de los nemátodos a estos fármacos, siendo la expresión de los genes *Dyf* los responsables de la captación, de tal manera que la mutación de algunos de ellos como el *osm-1* producen en los

endoparásitos menor permeabilidad a la droga, confiriéndoles, por tanto, resistencia a las ivermectinas.

La mayor información existente sobre la bioquímica de la resistencia a los antihelmínticos está dada para los benzimidazoles, conociéndose que el mecanismo de resistencia en nemátodos se basa en una alteración en la interacción tubulina-benzimidazol. Se ha observado que cuando se administran dosis terapéuticas

a animales infectados con nemátodos, los benzimidazoles hacen que los microtúbulos desaparezcan de las células intestinales de los nemátodos benzimidazol-susceptibles pero no de los benzimidazol-resistentes (Jackson, 1993; Lanusse y Prichard, 1993).

Un estudio interesante realizado con clones de *C. elegans* resistente al benzimidazol reveló la existencia de un gen β -tubulina (gen *ben-1*) que codifica una β tubulina sensible a la acción de los benzi-

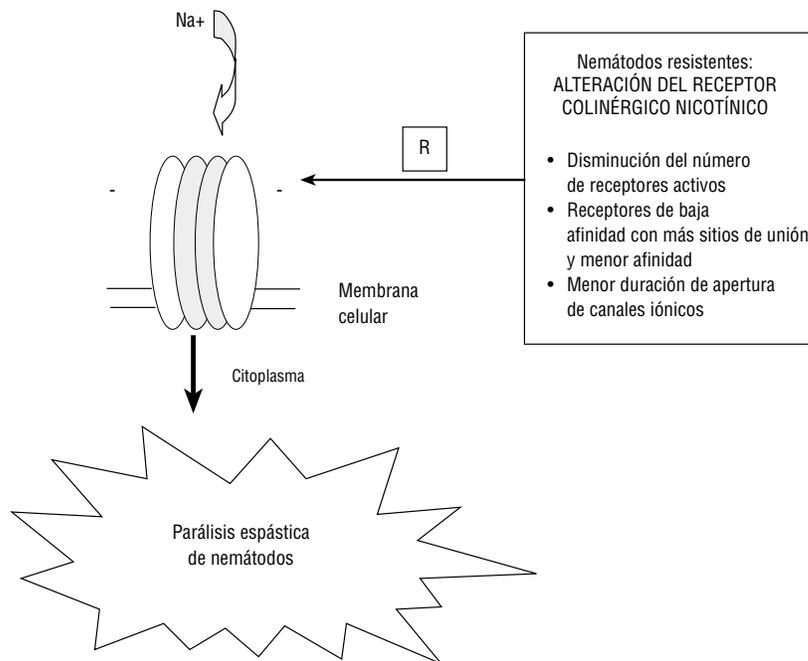


Figura 3. Esquema del modelo de receptor nicotínico sobre el que actúan levamisol/morantel-pirantel, y posibles mecanismos involucrados en el desarrollo de resistencia [R]. Tomado de Mottier y Lanusse (2002).

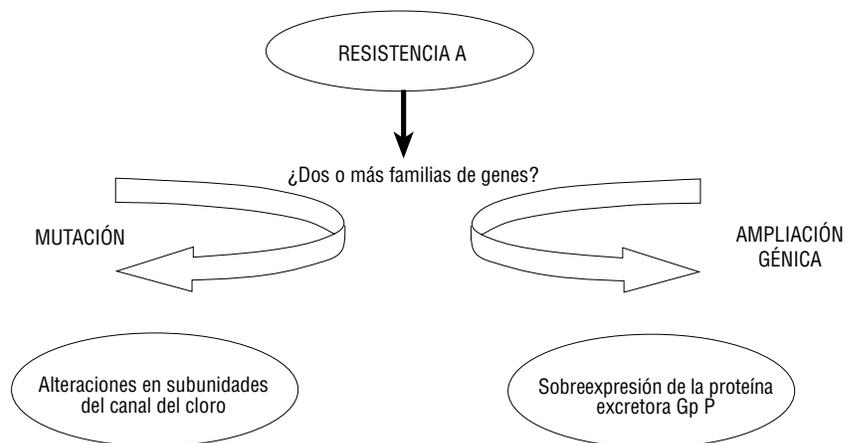


Figura 4. Representación esquemática de las posibles alteraciones genéticas y mecanismos involucrados en el desarrollo de Resistencia a fármacos endectocidas. Gp: glicoproteína P. Tomado de Mottier y Lanusse (2002)

midazoles, y se observó que en algunos mutantes resistentes este gen no se encontraba, y en otros no se expresaba claramente. Los autores sugieren que si el fenómeno de la resistencia a los benzimidazoles en los nemátodos parasíticos fuera similar al del *Cahenorabditis*, el proceso de selección resultaría en una población en que la mayoría de los individuos tuvieran suprimido el gen para la tubulina susceptible (Jackson, 1993). Posteriormente, Prichard (1994) informó que la resistencia a los benzimidazoles en nemátodos está asociada a una alteración que ocurre en los genes β -tubulina, los cuales reducen o impiden la alta afinidad de los benzimidazoles a la tubulina en estos organismos. Es decir, la resistencia ocurre cuando los genes que codifican para β -tubulina sufren mutaciones, causando la pérdida del receptor de alta afinidad por los benzimidazoles.

A su vez, el mecanismo de resistencia de *T. colubiformis* involucra una reducción en la constante de asociación (K_a) de los compuestos benzimidazoles al receptor de la tubulina de la cepa resistente comparada con la susceptible (Sangster *et al.*, 1985, citados por Lanusse y Prichard, 1993). Igualmente, la tubulina de los mutantes resistentes de *H. contortus* se une menos al benzimidazol que las cepas susceptibles del mismo parásito.

En general, las principales acciones terapéuticas de los modernos antihelmínticos ocurren en tres áreas bioquímico-fisiológicas constituidas por proteínas, siendo los canales iónicos, enzimas, proteínas estructurales y moléculas de transporte, los principales sitios de acción de estas sustancias (Tabla 2).

Detección de la resistencia antihelmíntica

En general, se sospecha que hay resistencia cuando en un rebaño hay una baja respuesta clínica después de un tratamiento; y antes de que la falla de un antihelmíntico sea detectada por los signos clínicos o por pérdidas en la producción, la selección para resistencia ya ha ocurrido (Waller *et al.*, 1988).

Varias técnicas se han descrito y usado para detectar la presencia de resistencia a los antihelmínticos en una población de nemátodos: pruebas in vivo y pruebas in vitro (Taylor, 1990; Coles *et al.*, 1992; Rolfe, 2002). Las técnicas de eclosión de huevos, motilidad larval, desarrollo larval y fijación a la tubulina se han desarrollado con éxito basados en los diferentes mecanismos de acción de

Tabla 2. Sitios de acción de los antihelmínticos comúnmente usados

Canales iónicos	Microtúbulos	Bioenergéticos	Desconocido
Tetrahidropirimidinas (Pirantel, morantel)	Benzimidazoles (thiabendazole, mebendazole, albendazole, netobimin)	Salicilanilidas (Closantel)	Praziquantel
Imidazotiales (Levamisole)			Triclabendazole
Lactonas macrocíclicas (Ivermectin, moxidectin)		Sulfonamidas clorinadas (Clorsulon)	
Piperazina			

Fuente: Köler, 2001.

Tabla 3. Pruebas *in vivo* e *in vitro* usadas en la detección de resistencia antihelmíntica

PRUEBA	ESPECTRO	TIPO DE PRUEBA	APLICACION	AUTOR (ES)
Prueba de eficacia controlada	Todas las drogas	In vivo PB	General	Powers <i>et al.</i> , 1982
Reducción del conteo de huevos	Todas las drogas	In vivo PB	General	Presidente, 1985
Eclosión de huevos	BZD	In vitro PB	General	Le Jambre, 1976 ; Coles y Simpkins, 1977 ; Hunt y Taylor, 1989
Parálisis larval	LV	In vitro PB	Investigación	Martin y Le Jambre, 1979
Parálisis larval	IV	In vitro PB	Investigación	Gill <i>et al.</i> , 1991; D'Assonville <i>et al.</i> , 1996
Desarrollo larval	BZD, IV	In vitro PB	Investigación	Coles y Simpkin, 1977
Desarrollo larval	BZD, LV	In vitro PB	Investigación	Taylor, 1990
Desarrollo larval	BZD, IV, LV	In vitro PB	Investigación	Lacey y Snowden, 1988
Desarrollo larval	BZD, IV, LV	In vitro PB	Investigación	Hubert y Kerboeuf, 1992
Fijación a la tubulina	BZD	In vitro PQ	Investigación	Lacey y Snowden, 1988
Actividad de la estearasa	BZD	In vitro PQ	Investigación	Sutherland <i>et al.</i> , 1990
Prueba de la tubulina (1)	BZD	In vitro 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.

los antihelmínticos (Craig, 1993; Jackson y Coop, 2000) (Tabla 3).

Pruebas in vivo: Entre éstas existen las pruebas de eficacia antihelmíntica controlada y las de reducción del conteo de huevos fecales.

Prueba de la Reducción del Conteo de Huevos fecales (RCH): Hasta hoy, la prueba más común para detectar resistencia antihelmíntica en nemátodos ha sido la prueba de la Reducción del conteo de huevos (Waller, 1997), la cual provee una estimación de la eficacia antihelmíntica mediante la comparación de recuentos de huevos en heces de animales antes y después de los tratamientos (Taylor *et al.*, 2002).

Es una prueba extensamente usada y un método cualitativo simple para medir la prevalencia de resistencia antihelmíntica en rumiantes, en la cual porcentajes de reducción de huevos inferiores al

90% entre los siete y diez días postratamiento son indicadores de resistencia (Kumar *et al.*, 1994). La prueba requiere de animales infectados naturalmente para proveer un estimativo de la eficacia antihelmíntica mediante la comparación del recuento de huevos de los parásitos en materia fecal antes y después del tratamiento. Se requiere además de un grupo de animales control no tratados que sirven como testigo de los cambios que pueden ocurrir durante el período estudiado, y de la realización de coprocultivos para la identificación de los géneros de parásitos involucrados en el fenómeno de la resistencia (Coles *et al.*, 1992).

El porcentaje de reducción del conteo de huevos se determina mediante las fórmulas: $RCH\% = 100 (1 - (T_2/T_1 \times C_1/C_2))$, en la que T y C son los promedios 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, y % RCH = $100 [1 - (XT/XC)]$, donde T y C son los promedios de los recuentos de huevos a los 10-14 días de los grupos tratado y control, respectivamente.

Esta prueba tiene las siguientes desventajas (Waller, 1997):

1. Algunos estados inmaduros de los parásitos que sobreviven al tratamiento pueden desarrollarse hasta adultos y contribuir en el recuento postratamiento.

2. Con algunos nemátodos como *Ostertagia spp.* y *T. colubriformis* la correlación entre el recuento de huevos en las heces y los helmintos presentes no siempre es lineal.

3. La necesidad de visitar, por lo menos en tres ocasiones, los predios a evaluar.

4. El requerimiento de un gran número de animales.

5. El alto costo para conducir estos estudios y la relativa insensibilidad de la técnica.

6. Algunos fármacos, como las avermectinas, pueden ejercer una supresión o inhibición temporal en la oviposición de los parásitos, lo cual puede conducir a resultados no enteramente confiables. Esto sugiere la necesidad de desarrollar pruebas altamente sensibles capaces de detectar resistencia a las macrolactonas (Le Jambre, 1997)

Prueba de eficacia antihelmíntica controlada: Es la prueba más confiable para confirmar la presencia de una población de nemátodos resistentes y la eficacia de un antihelmíntico, se determina por la comparación de poblaciones de parásitos en grupos de animales tratado (T) y control (C), distribuidos aleatoriamente. La necropsia, identificación y conteo del total de helmintos son comparados entre los dos grupos, y la eficacia de la droga está dada por la fórmula:

$$\% E = 100 \times \frac{\bar{X} \text{ de S en C} - \bar{X} \text{ de S en T}}{\bar{X} \text{ de S en C}}$$

Donde X es el promedio, S es la especie de parásito en los grupos control (C) y tratados (T), esta tiene la desventaja de ser una prueba costosa dado el alto número de animales requeridos para ser sacrificados (Wood *et al.*, 1995).

Pruebas *in vitro*

Prueba de eclosión de huevos: Se fundamenta en el hecho de que los benzimidazoles impiden la embriogénesis y eclosión de los huevos y, consecuentemente, la producción de los estados de vida libre de los helmintos; cuando los nemátodos son resistentes son refractarios al efecto ovicida de los benzimidazoles (Campos *et al.*, 1992; Saenz *et al.*, 1991). Básicamente, la prueba consiste en la separación de los huevos de las heces y posterior incubación de los mismos en una serie de diluciones de productos a base de benzimidazoles, para posteriormente determinar el porcentaje de huevos que embrionan y eclosionan mediante el cálculo de la DE50 y el uso del análisis probit (Campos *et al.*, 1992; Coles *et al.*, 1992; Saenz *et al.*, 1991).

Sin embargo, recientemente se ha descrito una prueba de eclosión de huevos para ser usada con el levamisol, en la cual los huevos colectados son incubados en agua hasta una hora antes de iniciarse el proceso de eclosión, momento en que la droga es adicionada y los huevos nuevamente incubados. Esta prueba requiere del mantenimiento de cepas resistentes y sensibles que actúen como controles positivos y negativos, respectivamente (Dobson y otros autores en 1986, citados por Echevarría, 1996a).

Prueba de motilidad larval: Basada en que algunas drogas como el levamisol, el pyrantel y el morantel actúan produciendo parálisis de los parásitos, Esta prueba se ha desarrollado especialmente para medir la motilidad de *Ostertagia spp.* y *Haemonchus spp.* Las larvas de los parásitos son expuestas durante 24 horas a diferentes concentraciones de una determinada droga, posteriormente se mide el grado de motilidad de éstas en un medidor de micromotilidad. Dicha prueba tiene la desventaja de su subjetividad en la medición para definir si una larva está paralizada o no. Igualmente, se informa que muchas veces se obtienen curvas atípicas de dosis-respuesta (Echevarría, 1996a).

Prueba de fijación a la tubulina: Esta prueba se ha desarrollado para evaluar la fijación de los benzimidazoles a la tubulina en sobrenadantes de suspensiones de larvas de tercer estado. Dicha prueba es basada en la reducida capacidad de los benzimidazoles para fijarse a la tubulina de los parásitos resistentes (Echevarría, 1996a).

Prueba de desarrollo larval: Consiste básicamente en exponer huevos de ne-

mátodos a diluciones seriadas de drogas en medios específicos y dejarlos desarrollar hasta larvas infectantes del tercer estado para ser examinadas e identificadas (Taylor, 1990). Si bien se ha desarrollado con éxito esta prueba usando benzimidazoles, no ocurre lo mismo con el levamisol y la ivermectina las cuales no producen curvas normales de dosis-respuesta. Sin embargo, dos ventajas de esta prueba son: provee una correlación directa entre la eficacia de la droga *in vivo* e *in vitro* requiriendo solo de una visita a las fincas y, además, posibilita la identificación, por morfología de larvas, de los géneros involucrados en la resistencia (Coles *et al.*, 1988; Waller, 1997).

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, la cual 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, especialmente elevados costos, hacen que esta prueba sea poco usada (Craig, 1993; Eddi *et al.*, 1997). Sin embargo, tanto las pruebas *in vivo* como las pruebas *in vitro* tienen desventajas en términos de costo, aplicabilidad e interpretación y reproductibilidad de los hallazgos (Jackson, 1993). Actualmente, se está trabajando para desarrollar métodos de detección altamente sensibles basados en biología molecular como sondas de DNA, lo cual permitirá detectar genes de resistencia de muy baja frecuencia en poblaciones aparentemente susceptibles (Le Jambre, 1997, citado por Waller, 1997), como los desarrollados por Elard *et al.*, (1999) quienes usando la técnica de PCR (reacción en cadena de polimerasa) detectaron el primer individuo resistente en una población parasitaria mediante la genotipificación de numerosos parásitos. La misma técnica permite identificar larvas o parásitos resistentes (rr) o susceptibles rS y SS.

Reversión de la resistencia

En el afán por lograr métodos alternativos para el control adecuado de helmintos en rumiantes, algunos investigadores se han dado a la tarea de descubrir formas que permitan el regreso a estados de susceptibilidad antihelmíntica en poblaciones de nemátodos seleccionados anteriormente como resistentes, basados exclusivamente en el retiro temporal de los compuestos seleccionadores para re-

sistencia. A este proceso se le conoce como reversión, y es definido como el descenso o la disminución en la frecuencia de individuos resistentes en una población de helmintos después de la retirada de uso de un antihelmíntico que estaba seleccionando para resistencia. Existen trabajos con resultados contradictorios al respecto; algunas observaciones de poblaciones de parásitos resistentes a benzimidazoles indican la no reversión a estados de susceptibilidad antihelmíntica (Craig, 1993). Borgsteede y Duyn (1989) en un experimento llevado a cabo en un predio con una cepa de reconocida resistencia al thiabendazol y después de ser abandonado este fármaco durante seis años por el uso del levamisol durante este tiempo, sometió a dos grupos de ovinos a tratamientos separados con levamisol y fenbendazol, observando que no hubo reversión de esta cepa a la susceptibilidad al benzimidazol.

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 incrementarse la resistencia luego de la reintroducción, toda vez que esta situación va a estar fuertemente influenciada por la patogenicidad y la fecundidad de la especie resistente prevalente, como en el caso de *H. contortus*, lo cual sugiere que cuando se opta por esta situación, debe hacerse bajo un estricto y cuidadoso monitoreo, con rotaciones quimioprofilácticas lentas y prevalencia de cepas conocidas y de menor potencial biótico, como sería el caso de *Teladorsagia spp.* (Jackson, 1993).

Sin embargo, Waller *et al.*, (1988) en un experimento llevado a cabo durante 16 años con ovinos observó que cepas de *Ostertagia spp.* y *Trichostrongylus spp.*, resistentes a benzimidazoles, luego de nueve años de exposición a estas drogas, revirtieron a susceptibilidad a benzimidazoles durante los dos años en que fue suministrado el levamisol. El estudio reveló que al reintroducirse un benzimidazol, luego de dos años de ausencia, el nivel de resistencia hacia éste retornó rápidamente a niveles más elevados que los reportados anteriormente.

Si ocurre reversión o no dependerá del nivel de genes resistentes en la población de parásitos. Cuando la población está compuesta de parásitos resistentes predominantemente homocigotos poca o ninguna reversión ocurrirá, pero si el re-

tiro de la droga que seleccionaba para resistencia se hace en una población de nemátodos constituida principalmente heterocigots cierto grado de reversión a susceptibilidad se presentará. Sin embargo, la reintroducción de la droga que seleccionaba resistencia resultará en un rápido retorno a estados de resistencia, como lo demostraron Waller *et al.* en 1988 (Jackson y Coop, 2000).

Control de la resistencia antihelmíntica

Por ser difícil detectar en forma clínica el inicio de la reducción de la eficacia de las sustancias químicas usadas por los productores, y dada la relativa pobre sensibilidad de las técnicas de detección in vivo actualmente usadas, es seguro afirmar que la mayor parte de los casos de resistencia no se detectan en estados tempranos (Echevarría, 1996b; Jackson, 1993). Aún así, si se tienen en cuenta factores diferentes al uso de antihelmínticos, probablemente la resistencia puede ser reducida. El control de la resistencia, para retardar su inicio o para disminuir su velocidad de desarrollo, está relacionado indiscutiblemente con los métodos diseñados para el control de helmintos, los cuales están siendo enfocados cada vez más en mantener bajos los niveles de la población de parásitos que no afecten la producción de los rumiantes, y menos en eliminar los parásitos adultos en los huéspedes (Barger, 1997; Ketzis, 2001), siendo la adopción de medidas que reduzcan la frecuencia de los tratamientos el eje central de las recomendaciones (Jackson y Coop, 2000).

Experiencias llevadas a cabo en Australia informan de la utilización de un pequeño número de tratamientos estratégicos basados en la epidemiología de los parásitos, con el objeto de reducir la presión de selección y, de paso, conservar alelos susceptibles en nemátodos sobrevivientes. Los alelos susceptibles pueden igualmente conservarse retirando los tratamientos de una porción del rebaño o identificando y tratando solo a los animales más susceptibles (Jackson y Coop, 2000).

Luego de diferentes estudios con resultados no del todo concordantes, existe cierto consenso en cuanto a las principales alternativas a tener en cuenta para el control de la resistencia (Jackson, 1993; Uilenberg, 1996; Williams, 1997).

Las siguientes son alternativas propuestas para el manejo de la resistencia:

1.) El primer aspecto que debe ser considerado es el diseño de estrategias

preventivas que incorporen quimioprofilaxis mínima, reducción del número de generaciones de parásitos y uso de la máxima eficacia de drogas para opacar los genes de resistencia recesiva. Esta estrategia conduce al retardo en el inicio de la resistencia. Sin embargo, tiene la desventaja de que los tratamientos estratégicos deben estar basados en el conocimiento de la epidemiología de los parásitos, lo que dificulta esta práctica en países en los cuales el conocimiento epidemiológico de estos parásitos es incipiente, lo cual aunado a las condiciones de trópico debilitarían este tipo de estrategias.

2.) Disminución en la frecuencia de tratamientos junto con una adecuada rotación de potreros que limiten el contacto huésped-parásito. Aunque presenta desventajas prácticas y genéticas, actualmente hay que contar con esta alternativa. Dado que el inicio de la resistencia está fuertemente asociado con la frecuencia de uso de los compuestos químicos, esta práctica merece consideración especial.

3.) Pastoreo con especies diferentes de ganado, especialmente de ovejas y bovinos, para el control de *H. contortus* de ovejas y cabras (Van Wyk *et al.*, 1988; Cabaret *et al.*, 2002).

4.) Uso simultáneo de antihelmínticos con diferentes modos de acción: Parece ser la más exitosa en la prevención de la resistencia. Sin embargo, esta práctica requiere del uso de antihelmínticos de absoluta eficacia comprobada al inicio del programa. Si los parásitos tienen algún tipo de resistencia a uno de los compuestos combinados la resistencia se intensificará, y se iniciará la selección al otro antihelmíntico.

5.) Uso de razas resistentes (Gray, 1997): Hay evidencias de que razas o individuos tienen esta habilidad. Sin embargo, esta es una estrategia prolongada y no necesariamente los que exhiban o desplieguen mejor esta característica son los potencialmente más productivos.

6.) Uso de vacunas contra los nemátodos de mayor importancia veterinaria: Constituyen probablemente el medio más deseable para combatir las infecciones del ganado por helmintos. Esfuerzos recientes se están haciendo en este campo, siguiendo el modelo de las vacunas contra *Dictyocaulus viviparus* y *D. filaria*. Sin embargo, actualmente los resultados en este campo no son nada satisfactorios dada la no viabilidad de producir vacunas comercialmente y el desuso en que han caído las vacunas irradiadas

(Nari *et al.*, 2000). Sin embargo, a excepción de la vacuna contra *D. viviparus* no existen vacunas comercialmente disponibles. Son pocos los progresos existentes en este tópico para bovinos, en contraste con lo ocurrido en el campo de los ovinos.

7.) Varias razones se esgrimen para explicar esta situación: a.) los principales laboratorios que trabajan vacunas contra helmintos orientan su trabajo hacia los ovinos; b.) hasta ahora, la resistencia antihelmíntica ha sido un problema en ovinos, más no en bovinos; c.) los nemátodos de los ovinos, especialmente *Haemonchus* son un problema mayor que los nemátodos de los bovinos; d.) los bovinos son animales experimentales costosos y e.) una vasta información de los huéspedes y los parásitos necesita ser acumulada (Vercruyse y Dorny, 1999).

8.) Rotaciones prolongadas de los antihelmínticos: La estrategia de usar un solo antihelmíntico hasta que su ineficacia sea evidente valida esta práctica, mientras que la rotación rápida de las drogas no debe usarse debido a la selección de resistencia a todas las drogas usadas en la rotación. Actualmente, se están recomendando rotaciones anuales. Sin embargo, el aspecto relacionado con la alternancia de las drogas no está resuelto del todo satisfactoriamente, dada la ausencia de estudios que demuestren el valor de esta recomendación en el campo (Jackson y Coop, 2000).

9.) Dilución de las poblaciones de parásitos resistentes con la introducción de cepas susceptibles en praderas mediante animales artificialmente infectados con cepas susceptibles (Van Wyk *et al.*, 1998).

10.) Control biológico: El interés por desarrollar alternativas no químicas para el control de los helmintos y las enfermedades parasíticas del ganado en los últimos años, ha posibilitado extraordinariamente la introducción del control biológico en el marco de una estrategia integrada para reducir el uso de los antihelmínticos (Padilha, 1999). El control biológico de los nemátodos parasíticos está dirigido al control de los estados de vida libre de los parásitos, en contraste con los quimioterapéuticos que atacan la fase parasítica en los huéspedes. Particularmente intensa ha sido la actividad científica en los últimos diez años, especialmente en Dinamarca y Australia, y México y Argentina en Suramérica, dirigida a explorar el potencial atrapador de nemátodos que tienen ciertos microhongos como *Duddingtonia flagrans*, un hongo que ha

demostrado tener habilidad para reducir las larvas de parásitos trichostrongylidos en heces de animales (Larsen, 1999; Padilha, 1999; Vercruyse y Dorny, 1999).

Se ha señalado que este hongo pasa a través del tracto gastrointestinal de los huéspedes sin sufrir alteración alguna como esporas, las cuales posteriormente germinan y se extienden por toda la materia fecal fresca para atrapar larvas en movimiento antes de que migren a los pastos (Waller, 1999). Aparte de *D. flagrans*, existen 200 especies de hongos que tienen la habilidad para atrapar larvas de nemátodos (Nari, 2000), los cuales pueden actuar en los huevos, en las larvas en desarrollo o en las larvas infectantes, por medio de diferentes estructuras (anillos constrictores, hifas, redes, etc.) que desarrollan en presencia de nemátodos (Padilha y Mendoza-de Gives, 1996; Ketzis, 2001). No obstante el gran potencial que tiene esta alternativa de control parasitario, el futuro de los productos biológicos basados en hongos nematófagos dependerá, sin embargo, del interés que ponga la industria farmacéutica y del precio, los cuales deben ser competitivos con las drogas antihelmínticas (Waller, 1999).

11.) FAMACHA: Un novedoso y promisorio sistema se ha venido aplicando recientemente en algunos países, denominado sistema FAMACHA, para el control de *H. contortus* en ovejas, el cual sirve para identificar el color de la conjuntiva ocular como signo clínico de anemia en animales individuales. El fundamento del sistema radica en que un pequeño porcentaje de animales de un rebaño presenta desproporcionadamente las mayores cargas parasitarias, mientras que una porción relativamente grande presenta bajos niveles de infección parasitaria, o no tiene parásitos. Basados en estas evidencias se han realizado experimentos en los cuales, tratando solo a los animales incapaces de soportar grandes cargas parasitarias, se favorece la proporción de endoparásitos no expuestos a fármacos, provenientes de los animales no tratados (Van Wyk *et al.*, 2002). Así mismo, resultados de modelos matemáticos han indicado que si una porción pequeña de animales son tratados con antihelmínticos, la resistencia sería retardada, debido a que una proporción de la población de parásitos escaparía de la selección antihelmíntica, y sería la encargada de "diluir" las poblaciones de nemátodos resistentes (Waller, 1999). La técnica fue desarrollada originariamente

en Sudáfrica y actualmente se valida en Brasil, Paraguay y Uruguay (Nari, 2000).

12.) Otras alternativas que, sin ser nuevas, han tomado vigencia en la investigación sobre métodos de control parasitario son: a.) Uso de plantas forrajeras para disminuir la población de larvas infectivas, b.) Uso de plantas medicinales y forrajeras para disminuir los parásitos adultos en el huésped, la fecundidad de los parásitos o alterar el desarrollo de los huevos de los nemátodos, y c.) cambios en la dieta (nutrientes). Al respecto, se menciona que algunos minerales incluidos en la dieta como el cobre (Knox, 2002), molibdeno y fósforo tienen efectos sobre la población de parásitos en huésped. 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.

Conclusiones

Si bien se conocen las bases moleculares de la resistencia a los antihelmínticos, menos conocidos son los factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia a estos compuestos químicos, no obstante las diferentes recomendaciones dadas a los productores para el retardo del surgimiento de este fenómeno, entre las cuales la disminución en la frecuencia de tratamientos ha constituido la principal recomendación esgrimida hasta ahora.

Sin embargo, el desarrollo de la resistencia antihelmíntica depende esencialmente de la eficiente presión de selección. Por lo cual, la alta frecuencia de tratamientos no es necesaria ni suficiente en la selección para resistencia, destacándose que la más eficiente forma para limitar el incremento de este fenómeno es la reducción de la presión de selección por las drogas y el mantenimiento de la eficacia de las familias de antihelmínticos existentes.

Teniendo en cuenta que el fenómeno de la resistencia es un problema de fincas individuales, influido por factores propios de los parásitos, del medioambiente y antrópicos, se requiere de investigaciones que promuevan programas regionales de control integrado de parásitos, que conduzcan a un mejor uso de los antihelmínticos, habida cuenta del uso indiscriminado que se está haciendo de éstos, tornando insostenible económica y ambientalmente los sistemas de producción ganaderos. Situación que debe generar el interés por parte de la industria farma-

céutica y el sector de investigadores colombianos para resolver esta problemática, particularmente mediante el desarrollo de estudios epidemiológicos de los nemátodos de bovinos en tres pisos térmicos de Colombia, explorando, igualmente, la situación de resistencia a los antihelmínticos mediante ensayos in vivo, inicialmente.

En este marco es evidente que en Colombia, como en otras regiones del mundo, un alto porcentaje de productores haga uso de dosificaciones incorrectas de antihelmínticos, ya sea porque éstas se suministran en épocas inadecuadas, en grupos inapropiados de animales o porque se utilicen productos ineficaces contra parásitos. Contactos personales con productores durante varios años de experiencia me ratifican la afirmación anterior.

Finalmente, cualquiera que sea la región donde se pretendan establecer controles adecuados de helmintos, éstos deben contemplar el mínimo uso de los antihelmínticos, así sean los más eficaces, y tener en cuenta aspectos básicos como la integración de la quimioterapia con prácticas de adecuado manejo de praderas, uso de dosificaciones correctas, rotación anual de drogas con mecanismos de acción diferentes, adecuada nutrición animal, tamaño de la población refugio, monitoreo parasitológico (recuento de huevos de helmintos) y convencimiento de los productores de que los antihelmínticos de amplio espectro son un recurso limitado que no se debe derrochar. Estas condiciones requerirán de un gran componente de transferencia de la tecnología para poder lograr un mejor aprovechamiento de los sistemas de producción ganadero colombianos.

BIBLIOGRAFÍA

Anziani, O. Resistencia de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos a los antihelmínticos. www1.inta.gov.ar/producto/helmin-to/tandil.htm

Barger, I. 1997. Control by management. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72, No. 3-4 p. 493-506.

Booth, N. y Macdonald, I. 1987. Farmacología y terapéutica veterinaria. Primera edición española. Zaragoza, España. Ed. Acribia S.A. 528 p.

Borgsteede, F. and Duyn, S. 1989. Lack of reversion of a benzimidazole resistant strain of *Haemonchus contortus* after six years of levamisole usage. *Research in Veterinary Science*. Vol. 47. p. 270-272.

Brunsdon, R. 1980. Principles of helminth control. *Veterinary Parasitology*. Vol. 6. p. 186-215.

Cabaret, J.; Bouilhol, M.; Mage, Ch. 2002. Managing helminthes of ruminants in organic farming. *Veterinary Research*. Vol. 33, No. 5. p. 625-640.

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*. Vol. 23, No. 1. p. 51-56.

Campos, R.; Limón, E. y Sáenz, M. 1995. Efectividad en ovinos del albendazol y oxfendazol administrados solos o combinados contra nemátodos resistentes y susceptibles al tiazolol. *Memoria Técnica* No. 9. Clave R 95001.

Coles, G.; Pritschler, H. and Giordano, D. 1988. Larval development test for detection of anthelmintic resistant nematodes. *Research in Veterinary Science*. Vol. 45. p. 50-53.

Coles, G.; Bauer, C.; Borgsteede, F.; Klei, T.; Taylor, M. and Waller, P. 1992. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (W:A:A:V:P:) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. Vol. 44. p. 35-44.

Coles, G. 2002. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases?. *Veterinary Research*. Vol. 33, No.5. p. 481-489.

Conder, G. 1998. Field efficacy of doramectin pour-on against naturally-acquired, gastrointestinal nematodes of cattle in North America. *Veterinary Parasitology*. Vol. 77, No. 4. p. 259-265.

Craig, T. 1993. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. Vol. 46. p.121-131.

Craig, T.; Armour, J.; Bandler, K. and Duncan, J. 1993. The pattern of faecal egg output in lambs infected with a multiple resistant strain of *Haemonchus contortus* after treat-

ment with albendazole. *Afr. Vet. Ass.* Vol. 64, No. 1. p. 31-34.

Dobson, R. J.; Lejambre, L. and Gill, J. H. 1996. Management of Anthelmintic Resistance: Inheritance of Resistance and Selection with Persistent Drugs. *International Journal for Parasitology*. Vol. 26, No. 8/9. p. 993-1000.

Echevarría, F. y Alfredo, P. 1989. Avaliação de resistencia anti-helmintica em rebanhos ovinos no município de Bagé, RS. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. Vol. 9. p. 69-71.

Echevarría, F. 1996a. Antihelmínticos y resistencia antihelmíntica. En: *Memorias Curso-Taller Internacional de Epidemiología y Diagnóstico de Endoparásitos en Rumiantes*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. Santafé de Bogotá. 220 p. (Biblioteca Agropecuaria de Colombia).

Echevarría, F. 1996b. 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. Santafé de Bogotá. 220 p. (Biblioteca Agropecuaria de Colombia).

Eddi, C. 1979. Caracosntantogolo, J.; Schapiro, J. y Cutullé, C. Resistencia antihelmíntica en la República Argentina. *Carrera de Veterinaria. Enfermedades parasitarias* 01. Internet. p. 1-6.

Elard, C.I. and Humbert J.S. 1999. PCR diagnosis of benzimidazole - susceptibility or resistance in natural populations of the small ruminant parasites, *Telatorcagia circuncinta*. *Veterinary Parasitology*. Vol 80, No. 3 p.231-237.

FAO. 2002. Sustainable worm management: an electronic conference. <http://www.worms.org.za>.

Farias, M.T.; Bordin, E.; Forbes, A. and Newcomb, K. A. 1997. Survey on resistance to anthelmintics in sheep study farms of southern Brazil. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72, No. 2. p. 209-215.

Fuentes, V. 1992. Farmacología y terapéutica veterinarias. Segunda edición. Ciudad de Mexico. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 669 p.

Gibson, T. 1980. Factors influencing the application of anthelmintics in practice. *Veterinary Parasitology*. Vol. 6. p. 241-254.

Gray, G. 1997. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72. p. 345-366.

Griffiths, I. B.; Parra, D.; Vizcaíno, O. and Gallego, M. I. 1986. Prevalence of parasite eggs and cysts in faeces from in dayry cows in Colombia. *Tropical Animal Health Production*. Vol. 28. p. 155-157.

- Halley, B.; Vandenheuvel, W. and Wislocki, P. 1993.** Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. *Veterinary Parasitology*. Vol. 48, No. 1-4. p. 109-125.
- Jackson, F., Jackson, E. and 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*. Vol. 53. p. 371-374.
- Jackson, F. 1993.** Anthelmintic resistance-The state of play. *British Veterinary Journal*. Vol. 149. p. 123-135.
- Jackson, F. and Coop, R.L. 2000.** The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology*. 120. p. 95-107.
- Jones, R.; Bogan, N.; Weatherley, A.; Little, A. and Smothers, C. 1993.** Activity of doramectin against nematode endoparasites of cattle. *Veterinary Parasitology*. V. 49 No. 1. p. 27-37.
- Ketzis, J. K. 2001.** New parasite control methods-How will they affect livestock nutrition and diets? www.ansci.cornell.edu/tm-plobs/baagzAD7b.pdf.
- Köler, P. 2001.** The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*. Vol. 31. p. 336-345.
- Knox, M.R. 2002.** Effectiveness of copper oxide wire particles for *Haemonchus contortus* control in sheep. *Australian Veterinary Journal*. Vol. 80, No. 4. p. 224-227.
- Kumar, R. y Yadav, C. 1994.** Prevalence of fenbendazol resistance in ovine nematodes in north west India. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 26. p. 230-234.
- Lanusse, C. and Prichard, R. 1993.** Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminants anthelmintics. *Veterinary Parasitology*. Vol. 49. p. 123-158.
- Larsen, M. 1999.** Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*. Vol. 29. p. 139-146.
- Le Jambre. 1997.** Sensitive assays to detect resistance anthelmintic. *CSIRO Animal production*. p. 1-2. html.
- 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*. Vol. 6, No. 2. 485 p.
- Maciel, S.; Jiménez, A.; Gaona, G.; Waller, P. and Hansen, J. 1996.** The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. *Veterinary Parasitology*. Vol. 62, No. 3-4. p. 207-212.
- Mbarria, J.; Maitho, T.; Mitema, E. and Muchuri, D. 1998.** Comparative efficacy of pyrethrum marc with albendazole against sheep gastrointestinal nematodes. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 30. p. 17-22.
- Mckellar, Q. 1997.** Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72, No. 3-4. p. 413-435.
- 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. Vol. 47. No. 2. p. 49-56.
- Martin, R. J. 1996.** An electrophysiological preparation of pharyngeal muscle reveals a glutamate-gated chloride channel sensitive to the avermectin analogue milbemycin. *Parasitology*. Vol. 112. p. 247-252.
- Martin, R. J.; Murray, I.; Robertson, A. P.; Bjorn, H.; Sangster, N. 1998.** Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. *International Journal for Parasitology*. Vol. 28. p. 849-862.
- Martin, R. J.; Robertson, A. P. 2000.** Electrophysiological investigation of anthelmintic resistance. *Parasitology*. 120. p. 87-94.
- Moll, L.; Gaasenbeek, C.; Vellema, P. and Borgsteede, F. 2000.** Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*. Vol. 51. p. 153-158.
- Mottier, L.; Lanusse, C. 2002.** Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. ww1.inta.gov.ar/producto/helmin-to/pdf%20resistencia/Motier2.pdf
- Mwamachi, D.; Audho, J.; Thorpe, W. and Baker, R. 1995.** Evidence for multiple anthelmintic resistance in sheep and goats reared under same management in coastal Kenya. *Veterinary Parasitology*. Vol. 60, No. 3-4. p. 303-313.
- Nari, A.; Salles, J.; Gil, A.; Waller, P. and Hansen, J. 1996.** The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Veterinary Parasitology*. Vol. 62, No. 3-4. p. 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. *Red de helmintología Veterinaria de América Latina y El Caribe*. Html. 16 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*. V. 29. P. 153-154.
- Parra, D. y Uribe, L. F. 1990.** Epidemiología de nemátodos del bovino en el pie de monte de los Llanos Orientales de Colombia. *Revista ACOVEZ*. Vol. 14. No. 4. p. 16-25.
- Pinheiro, A. y Echevarría, F. A. 1990.** Susceptibilidad de *Haemonchus* spp. em bovinos ao tratamento anto-hemíntico com albendazole e oxfendazole. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. Vol. 10, No.1 y 2. p. 19-21.
- Prichard, R. and Ranjan, S. 1993.** Anthelmintics. *Veterinary Parasitology*. Vol. 46, No. 1-4. p. 113-120.
- Prichard, R. 1994.** Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. V. 54 No. 1-3. p. 259-268.
- Rivera, B.; Parra, D.; García, O. y Aycardi, E. 1983.** Gastrointestinal parasites in calves in Colombia. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 15. p. 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. Santafé de Bogotá. 220 p. (Biblioteca Agropecuaria de Colombia 2).
- 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 thiabendazol. *Técnica Pecuaria en México*. Vol. 29, No. 3. P. 1-5.
- Sangster, N. C. 1999.** Anthelmintic resistance : past, present and future. *International Journal for Parasitology*. Vol. 29. p. 115-124.
- Scott, E. W. and Armour, J. 1991.** Effect of development of resistance to benzimidazoles, salicylanilides and ivermectin on the pathogenicity and survival of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Record*. Vol. 128. p. 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.* Vol. 30, No.1. p.47-54.
- Smith-Buijs, C. and 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*. Vol. 40. p. 4-7.
- Sommer, C. and 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*. Vol. 48, No. 1-4. p. 67-73.
- Stear, M. J.; Strain, S. and Bishop, S. C. 1999.** Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *International Journal for Parasitology*. Vol. 29. p. 51-56.
- Stromberg, B. 1997.** Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72, No. 3-4. p. 247-264.

Stron, L. 1993. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Veterinary Parasitology*. Vol. 48, No. 1-4. p. 3-17.

Strong, L.; Wall, R.; Woolford, A. and 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*. Vol. 62, No. 3-4. p. 253-266.

Taylor, M. 1990. A larval development test for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of sheep. *Research in Veterinary Science*. Vol. 49 p. 198-202.

Taylor, M.; Hunt, K.; Wilson, C. and Baggett, D. 1990b. Efficacy of ivermectin against benzimidazole-resistant nematodes of sheep. *Veterinary Record*. Vol. 127. p.302-303.

Taylor, M.; Hunt, K.; Goodyear, K. 2002. Anthelmintic resistance detection methods. *Veterinary Parasitology*. Vol. 103. p. 183-194.

Thomas, B. 1982. The ecological basis of parasite control: nematodes. *Veterinary Parasitology*. Vol. 11. p. 9-24.

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 No. 10. 58 p .

Uilenberg, G. 1996. Integrated control of tropical animal parasitoses. *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 28. p. 257-265.

Van Wik, J.; Bath, G.; Malan, F. 1998. The need for alternative methods to control nematode parasites of ruminant livestock in South Africa. *World Animal Review*. Vol. 91, No.2. p. 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*. Vol. 68. p. 55-67.

Van Wyk, J.; Bath, G. 2002. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research*. Vol. 33, No. 5. p. 509-529.

Vercruyse, J. And Dorny, P. 1999. Integrated control of nematode infections in cattle: A reality? A need? A future?. *International Journal for Parasitology*. Vol. 29. p. 165-175.

Waller, P.; Dobson, R. and Axelsen, A. 1988. Anthelmintic resistance in the field: Changes in resistance status of parasitic populations in response to anthelmintic treatment. *Australian Veterinary Journal*. Vol. 65, No. 12. p. 376-379.

Waller, P. 1993. Towards sustainable nematode parasite control of livestock. *Veterinary Parasitology*. Vol. 48. p. 295-309.

Waller, P.; Dask, K.; Barger, I.; Le Jambre, L. and Plant, J. 1995. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from Australian experience. *The Veterinary record*. Vol. 22. p. 411-413.

Waller, P.; Echevarria, F.; Eddi, C.; Maciel, S.; Nari, A. and Hansen, J. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites in Southern Latin America: General overview. *Veterinary Parasitology*. Vol. 62, No. 2-3. p. 181-187.

Waller, P. 1997. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72. p.391- 412.

Waller, P. J. 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology*. Vol 29. p. 155-164.

Weeb, R. 1979. *Veterinary Epidemiology and Economics*. p. 220-224.

Williams, J. 1997. Anthelmintic treatment strategies. Current status and future. *Veterinary Parasitology*. Vol. 72. p. 461-477.

Williams, J. 1991. Efficacy of albendazol, levamisol and fenbendazol against gastrointestinal nematodes of cattle, with emphasis on inhibited early fourth stage *Ostertagia ostertagi* larvae. *Veterinary Parasitology*. Vol. 40, No. 1-2. p. 59-71.

Wood, I.; Amaral, N.; Bairden, K.; Duncan, J.; Tassai, T.; Malone, J.; Pankavich, J.; Reineke, R.; Slocombe, O.; Taylor, S. and Veracruise, J. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.). Second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology*. Vol. 58. p. 181-213.