



FACULTAD DE AGRONOMÍA
Y VETERINARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL
DE RÍO CUARTO



Universidad Nacional de Río Cuarto

Facultad de Agronomía y Veterinaria

Proyecto de Trabajo Final presentado para optar al Grado de Médico
Veterinario

**EVALUACIÓN A CAMPO DE LA EFICACIA
ANTIHELMÍNTICA DE CUATRO ANTIPARASITARIOS DE
AMPLIO ESPECTRO EN BOVINOS DE UN ESTABLECIMIENTO
DEL SUR DE CORDOBA (ARGENTINA)**

Presentado por el alumno:

Bogni, Santiago Gabriel

DNI: 36911812

Director: Lovera, Hernán José

Codirector: Motta, Carlos

Río Cuarto – Córdoba

Marzo 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: Evaluación a campo de la eficacia antihelmíntica de cuatro antiparasitarios de amplio espectro en bovinos de un establecimiento del sur de Córdoba (Argentina).

Autor: Bogni, Santiago Gabriel

DNI: 36.911.812

Director: Lovera, Hernán José

Co-Director: Motta, Carlos

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

INDICE

	Contenido	
INTRODUCCION		1
OSTERTAGIASIS BOVINA (OSTERTAGIOSIS)		2
ANTIHELMINTICOS		5
RESISTENCIA A ANTIHELMINTICOS		6
RESISTENCIA A BENCIMIDAZOLES		8
RESISTENCIA A IMIDAZOTIAZOLES		8
RESISTENCIA A LACTONAS MACROCICLICAS		8
TEST DE REDUCCION DE CONTEO DE HUEVOS		9
HIPOTESIS		12
OBJETIVOS		12
MATERIALES Y METODO		12
TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (TRCH)		13
Técnica de McMaster modificada.....		15
Procedimiento para heces bovinas:.....		15
CALCULO EL HPG		19
FORMACIÓN DE LOS GRUPOS PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST		19
RESULTADOS		21
DISCUSIÓN		23
CONCLUSIONES		24
BIBLIOGRAFÍA		25

INTRODUCCION

La región sur de la Provincia de Córdoba, representó la región con mayor producción ganadera en la provincia, fundamentalmente, de invernada sostenida con pasturas y suplementación con racionamientos. En líneas generales, el sur cordobés exteriorizaba, entre 1960 y 2008, una merma de 1.380.848 cabezas de ganado pero, si consideramos la cantidad de existencias desde su mayor pico de crecimiento -1988-, llegó en 2008 a -1.853.514 cabezas y en 2011 superó los dos millones de cabezas. Indudablemente, la expansión de la frontera agrícola hacia los departamentos más sureños y las políticas públicas que hicieron de la escala productiva un factor esencial de la ganancia, terminaron no solo de despojar al paisaje rural de alambrados y mangas sino que también, afectó la composición productiva regional de miles de productores ganaderos (Formento, 2014).

El escenario actual de la producción ganadera es favorable ya que se han sacado retenciones, esta la posibilidad de abrir nuevos mercados como México, se modificó el cepo cambiario tornando a la Argentina como un país un poco más barato de lo que fue años atrás comparándolo con países competidores como Brasil, Paraguay o Uruguay.

Todo esto beneficia el negocio de la carne vacuna que debe competir con los precios altos de la agricultura, para ello en los sistemas productivos se debe tener una alta eficiencia en el uso de recursos alimenticios, siendo estos los que concentran el mayor porcentaje del costo productivo. Los sistemas productivos de base pastoril son económicamente más rentables, ya que se aprovechan pasturas y verdeos estacionales a lo largo del año; el problema que tienen estos sistemas, entre otros, son las parasitosis gastrointestinales que sufren los bovinos disminuyendo la eficiencia de aprovechamiento del alimento y reduciendo la tasa de desarrollo corporal, desde el destete y hasta bien entrada la primavera, las parasitosis internas comprometen seriamente la producción de novillitos y vaquillonas, en dicho período, los animales pueden perder hasta 30 kg. de peso sin presentar síntomas.

La gastroenteritis verminosa es una enfermedad que afecta principalmente a los bovinos en sistemas pastoriles, donde se puede perder hasta el 20% de la ganancia diaria de peso sin que existan signos clínicos evidentes, esta afección es producida por un grupo de nemátodos, de los cuales los más patógenos para la región son: *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora*, *Trichostrongylus axei* y *Haemonchus placei*, siendo epidemiológicamente más relevante *Ostertagia ostertagi* (Suárez, 2005)

OSTERTAGIASIS BOVINA (OSTERTAGIOSIS)

Los terneros destetados a fin del verano o comienzos de otoño, se infectan por larvas provenientes del año anterior que sobrevivieron al verano y algunas que ingirieron al pie de la madre durante su lactancia, pero en su mayoría provenientes de las deposiciones fecales, y que son diseminadas en el pasto por las primeras lluvias de otoño. Los animales ingieren las L3 con el pasto, éstas se desarrollan hasta adultos en 2-3 semanas, y debido a la escasa inmunidad de los terneros se produce un importante incremento en los valores de huevos por gramo de materia fecal (hpg). Ostertagia haciendo un breve pasaje por las glándulas gástricas madura a adulto en alrededor de 21 días (ciclo corto), haciendo el típico ciclo de los trichostrongilidos gastrointestinales, conociéndose esto como Ostertagiosis tipo 1 (Figura 1). Los principales signos clínicos son: diarrea profusa de color verdosa, marcada pérdida de peso corporal, anorexia, pelo hirsuto; y las lesiones que podemos encontrar son nódulos en pared de abomaso, citolisis epitelial e hiperplasia irregular alrededor de la zona que sufrió lisis, y edema en pared abomasal y en tejido celular subcutáneo.

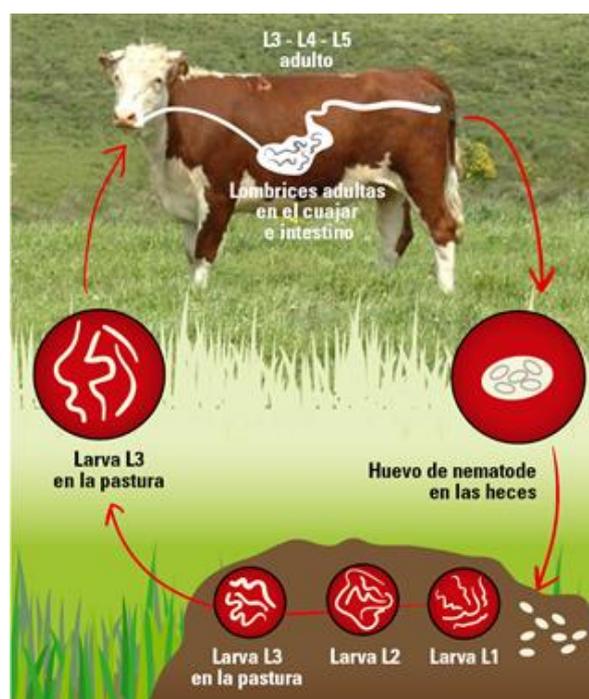


Figura 1. Ciclo evolutivo general de los parásitos gastrointestinales del bovino (Trichostrongilidos gastrointestinales)
(Fuente: www.imagenesmi.com/im%C3%A1genes/cooperia-spp-00.html)

La alta contaminación de las pasturas en conjunto con las abundantes lluvias de la época, aumenta la infectividad de las pasturas llegando a su máximo nivel entre julio y septiembre. Este ciclo se repite varias veces elevándose la carga de adultos, ya que se producen

entre 4 a 5 generaciones parasitarias en el animal que originan las mayores pérdidas de peso junto con una mayor frecuencia de casos clínicos durante el invierno (Descarga et al., 1988; Daffner et al., 1990; Fiel et al., 1988; Fiel y Steffan, 1994; Suárez, 1990a). Este proceso se ve agravado por el pobre estado nutricional de los animales debido a la reducción en cantidad y calidad del forraje disponible en esta época del año (Steffan y Fiel, 1994). Durante la primavera la infestación de las pasturas disminuye a raíz de un efecto de dilución ejercido por el crecimiento del pasto y el aumento paulatino de la temperatura.

El estado nutricional de los animales, que ya rondan el año de edad, mejora contribuyendo al desarrollo de inmunidad y disminuyendo por consiguiente los conteos de hpg. y la contaminación de las pasturas. En el período entre el final de la primavera y principios del verano *O. ostertagi* se encuentra en su mayor parte como L4 iniciales en las glándulas abomasales quedando una pequeña cantidad de adultos; por lo que casi no se eliminan huevos por materia fecal. Dentro del ciclo evolutivo, éste cuadro clínico se conoce como Ostertagiosis pre tipo 2. En esta etapa los animales no presentan signos clínicos.

Ésta hipobiosis o detención del desarrollo de *Ostertagia ostertagi*, en la provincia de Buenos Aires, se produce en las L3 que son ingeridas en el período septiembre-diciembre, alcanzando valores máximos de inhibición del orden de 60 a 90% según se trate de ganado lechero o carnicero respectivamente (Fernández et al., 1992, 1994; Fiel et al., 1988), al igual que en el sudeste de Córdoba (Descarga et al., 1988).

Durante el verano la infectividad de las pasturas se reduce por acción de las altas temperaturas y la sequía que destruyen la gran mayoría de las L3 presentes en el forraje. Es en este momento que comienza la desinhibición de las Larvas 4 infestantes (L4i) de *Ostertagia ostertagi*. A partir de enero la carga de larvas hipobióticas se reduce, y ya en el mes de marzo los índices de larvas inhibidas en el abomaso son muy bajos (Fernández et al., 1992, 1994; Fiel et al., 1988) (Figura 2).

La reanudación del desarrollo de las larvas inhibidas ocurre normalmente en forma gradual, madurando diariamente en cantidades moderadas, o por el contrario en ondas o masivamente, donde un gran número de larvas puede desarrollarse en un corto período de tiempo (Williams, 1986). Ésta última etapa es lo que se conoce como Ostertagiosis tipo 2. Como signos clínicos encontramos diarreas intensas que pueden durar entre 7 a 10 días, hay una rápida pérdida de peso, palidez y edemas subcutáneos, los animales severamente afectados la debilidad llega al extremo de imposibilitar que ellos se mantengan de pie; puede haber una anemia moderada. Las lesiones son las mismas que en la Ostertagiosis tipo 1.

En Argentina se han presentado abomasitis edematosas hacia fines del invierno en vacas adultas recién paridas y en animales de recría cruce cebú relacionándose las con altas cargas de estados inmaduros de *O. ostertagi*. Se trataban de casos individuales que se vincularon a ostertagiasis tipo 2, consecuencia del quiebre circunstancial de la inmunidad en vacas viejas recién paridas, o bien consecuencia de una susceptibilidad/respuesta excesiva en animales cruce cebú (Steffan *et al.*, 2012).

La respuesta local se ha descripto como una reacción de hipersensibilidad de tipo I que puede expresarse de manera rápida, como por ejemplo los fenómenos de autocuración en ovinos, que conducen a la expulsión de las larvas ni bien entran en contacto con la mucosa (Miller, 1984), o retardada en donde la respuesta no es explosiva pero finalmente efectiva en la remoción de los vermes (Gasbarre, 1997). Se ha especulado que la reacción de hipersensibilidad local como consecuencia de reinfestaciones permanentes durante el pastoreo, es causante de pérdidas de producción debido al aumento de permeabilidad de la mucosa que permitiría la fuga de proteínas plasmáticas a la luz del tubo digestivo (Armour y Ogbourn, 1982). En casos clínicos de ostertagiasis tipo 2, la utilización de antihistamínicos y corticoides como complementos terapéuticos facilita la recuperación de los animales afectados.

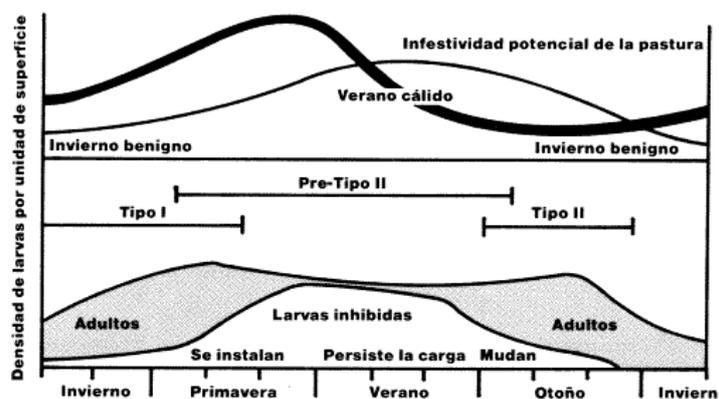


Figura 2. Epidemiología de *Ostertagia ostertagi* en relación al clima y manejo (Fuente: www.produccion-animal.com.ar/)

Efectos de los nemátodos bovinos en la invernada:

✓ Mortalidad: impactante pero poco frecuente, se debe al deterioro corporal por pérdida de nutrientes, a la diarrea y deshidratación. Las muertes en la región pampeana se

producen bajo el efecto de elevadas infestaciones mixtas (*Ostertagia*, *Cooperia* y *Trichostrongylus*) durante el 1er año de vida, no pasando la mortandad del 3% por lo general. Menos frecuentemente en animales que pasan los 18 meses de edad, en el final del verano y otoño, se observan muertes por desinhibición de *Ostertagia* e infestaciones posteriores.

✓ Reducción de la ganancia de peso vivo: por la disminución del consumo se reduce la conversión de carne a pasto. Además el desarrollo óseo y muscular se ve afectado por alteraciones en la digestión, absorción, pérdida endógena de proteínas por la inflamación de las paredes gastroentéricas y menor tasa de utilización energética.

✓ Categoría afectada: las mayores pérdidas ocurren después del destete durante el primer otoño-invierno de pastoreo, con pérdidas subclínicas que van del 9 al 22 %, y que representan unos 18 a 44 kg al año de edad al llegar la primavera, al compararlos con lotes tratados (Suarez, 2005). Si son praderas perennes pastoreadas con alta densidad el efecto será mayor que en engordes basados en verdes anuales o praderas naturales con baja carga animal.

✓ Producto final: los nemátodos gastrointestinales afectan también la calidad de la res, en la argentina, resultados presentados por Garriz et al. (1987) muestran una reducción del 14 % al 20% en el tejido muscular de las carcasas de novillos que sufrieron respectivamente parasitosis moderadas a graves; un ensayo del INTA Anguil demostró pérdidas sustanciales (Figura 3).

Grupos	GST	GTE	GTM
Peso de res kg	176	220	230
Músculo total kg	99	118	120
Área de Ojo de bife cm ²	48	54	56
Grasa total kg	34	50	59
Hueso total kg	28	32	32

Figura 3. Análisis de reses (10 de cada grupo) de 3 grupos (GTM=grupo sin tratamiento; GTE=grupo tratado estratégicamente; GTM=grupo tratado mensualmente (Suárez et al., 1990)

ANTIHELMINTICOS

Los grupos químicos antiparasitarios son los mismos que se comenzaron a utilizar en las décadas del 70 y del 80 y aún hoy el control de las parasitosis intestinales en bovinos se realiza por antihelmínticos de la familia Lactonas macrocíclicas, dentro de ellas del grupo de Avermectinas siendo las más utilizadas la Ivermectina y Doramectina. Esto debido a su amplio espectro de acción que abarca parasitosis gastrointestinales, pulmonares y ectoparásitos,

también por su vía de administración y porque son drogas muy seguras ya que se necesita 10 veces la dosis recomendada para intoxicar el animal.

Hay mas drogas en el mercado como la familia Bencimidazoles donde los más utilizados son el Albendazol, Ricobendazol y Fenbendazol, que están resurgiendo porque se habían dejado de utilizar por su bajo espectro antihelmíntico y las vías de administración. Otro de los que se utiliza es el Levamisol, que es de la familia de los Imidazotiazoles que tiene amplio espectro de acción pero tienen un margen de seguridad reducido debiendo pesarse a los animales para su administración, alargando el trabajo en la manga, por lo que también es de baja utilización. Otra droga que también se encuentra en el mercado es el Closantel, que es una Salicilanilidina utilizada para infecciones de Fasciola hepática, aunque tiene también efecto contra nemátodos intestinales.

La alta frecuencia de desparasitaciones, el uso indiscriminado de antiparasitarios, la falta de rotación de principios activos, sumado al riesgo que representan en las condiciones antedichas las drogas o formulaciones de efecto prolongado, son las principales causas que inducen la aparición de resistencia antihelmíntica. Esta es la capacidad heredable de la población parasitaria de reducir su sensibilidad a la acción de una o más drogas. Esta reducción se expresará en un aumento significativo de individuos, dentro de una misma población de parásitos, capaces de tolerar dosis de droga que han probado ser eficaces para la mayoría de los individuos de la misma especie. La resistencia no debe ser confundida con tolerancia, que en parasitología se refiere a la falta de respuesta innata de la población parasitaria para cada droga independientemente de la exposición previa y que en términos prácticos corresponde al valor que queda por fuera de la eficacia declarada para cada género y especie parasitaria (Fiel, et al. 2013).

RESISTENCIA A ANTIHELMINTICOS

La resistencia antihelmíntica (RA) en nematodos gatrointestinales del ganado se ha convertido en un problema en muchos países, en donde varios informes de encuestas indicaron una amplia diseminación de la RA. Además, el número de reportes en la bibliografía publicada sobre los últimos años sugiere que el problema está rápidamente incrementándose (Anziani , 2001; Fiel, 2001; Caracostantógolo, 2005; Mejía, 2003; Suárez y Cristel, 2007; Saravia 2008; Steffan 2012). Numerosos estudios acerca de la RA en nematodos bovinos se han comunicado en todo el mundo, mayormente en las regiones en donde los sistemas de producción se basan sobre manejos del pastoreo, tales como Nueva Zelanda, Brasil, Colombia, Reino Unido y los Estados Unidos.

La RA ha sido comunicada para todos los antihelmínticos de amplio espectro (Levamisol, Benzimidazoles y Lactonas Macrocíclicas) usados para ganado. En Argentina, los

primeros casos de resistencia a lactonas macrocíclicas y Bencimidazoles en ganado fueron reportados por Anziani y col. (2001) y Fiel y col. (2001). Los casos de resistencia antihelmíntica múltiple y multiespecie fueron detectados mas tarde. Algunos ensayos recientes hechos en Argentina han intentado cuantificar la ocurrencia de RA regional en establecimientos bovinos.

Caracostantógolo en 2005 realizo un relevamiento nacional y obtuvo 59% de establecimientos bovinos con RA y 41% de establecimientos tenían parásitos susceptibles. Por su parte el INTA junto con dos facultades de veterinaria y la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de Mar del Plata muestrearon 63 establecimientos repartidos en la pampa húmeda y nordeste del país obteniendo que el 95,2% presentaron resistencia a uno de los principios activos evaluados y solo 4,8% presentaron susceptibilidad a las drogas utilizadas; lo que sitúa a la RA como un fenómeno ampliamente instalado en los sistemas productivos en la actualidad. (Cetrá; 2016)

La resistencia antihelmíntica es una modificación genética, mediada por un incremento en la frecuencia de expresión de un carácter hereditario que le confiere a ciertos parásitos de una población la capacidad de sobrevivir al efecto farmacológico de dosis terapéuticas recomendadas de una droga antihelmíntica, en relación a la población normal (susceptible) de una misma especie (Prichard et al., 1980).

La secuencia de eventos por la cual se alcanza el desarrollo de resistencia antihelmíntica podría resumirse como sigue: 1) el material genético que confiere resistencia existe en una muy baja frecuencia en una población parasitaria, siendo la población mayoritariamente susceptible a la dosis recomendada de un fármaco antihelmíntico; 2) tratamientos sucesivos con la misma droga ó grupo de drogas con un mismo mecanismo de acción, matan los genotipos susceptibles, sobreviviendo al tratamiento los nemátodos resistentes que poseen genotipos homocigota (RR) y heterocigota (RS); 3) los pocos helmintos que sobreviven tras la sucesión de tratamientos, están molecularmente capacitados para resistir el efecto de ese tipo de fármacos, lo cual es heredado de generación en generación; 4) la selectiva desaparición de los genotipos susceptibles lleva a que las próximas generaciones sean descendencia de la minoritaria población resistente, lo cual origina el desarrollo de resistencia a ese tipo de fármacos.

Las drogas ejercen una fuerte presión de selección a favor de los organismos resistentes por inhibir el desarrollo de los individuos susceptibles al fármaco (Pratt, 1990). Un fármaco antihelmíntico será eficaz si logra alcanzar concentraciones tóxicas para el parásito en el sitio donde éste se localiza, por un período suficientemente prolongado, como para lograr la eliminación ó muerte del mismo (Lanusse y Prichard, 1993). La llegada del antihelmíntico al interior del parásito es necesaria para que éste alcance su receptor específico y así asegurar su actividad farmacológica, también es necesario conocer el tiempo de aparición del efecto y

cuanto perdurará. Estos conceptos son fundamentales para entender el patrón de eficacia y el potencial desarrollo de resistencia, basados ambos en la relación entre la concentración de droga activa alcanzada en el mencionado sitio de localización del helminto y las propiedades fisicoquímicas de los fármacos en cuestión.

RESISTENCIA A BENCIMIDAZOLES

Esta familia actúa ligándose selectivamente a la subunidad b de la tubulina de nemátodos y céstodos, modificando el patrón de polimerización para la formación de los microtúbulos (Rew y Fetterer, 1986; Lacey y Prichard, 1986; Lacey, 1988; Lubega y Prichard, 1991). Esto origina una pérdida de la homeostasis celular, que si persiste en el tiempo puede resultar letal para el parásito (Lacey, 1988). Se requieren concentraciones sostenidas en el tiempo para asegurar la eliminación de los parásitos de su sitio de localización (Lanusse y Prichard, 1993), razón por la cual es relevante el conocimiento de las propiedades farmacocinéticas de los mismos.

El mecanismo de resistencia involucra alteraciones en las isoformas de b tubulina, pero no en las isoformas de a tubulina (Lubega y Prichard, 1991; Prichard, 1994). La resistencia ocurre cuando los genes que codifican para b tubulina sufren mutaciones, lo cual causa la pérdida del receptor de alta afinidad por los bencimidazoles (Lacey y Prichard, 1986; Lubega y Prichard, 1991). Ésto se ve reflejado en una disminución en la unión específica de BZD a b tubulina.

RESISTENCIA A IMIDAZOTIAZOLES

Actúan rápido y selectivamente como agonistas colinérgicos sobre receptores nicotínicos sinápticos y extrasinápticos de las membranas de las células musculares de los nemátodos induciendo a parálisis espástica de estos (Martin, 1997; Moreno-Guzmán et al., 1998). La resistencia a estos agonistas colinérgicos se produce por cambios en las propiedades de la población de receptores nicotínicos (Robertson et al., 1999) y a través de una alteración en la unión de estos fármacos con sus receptores nicotínicos en las células musculares del nematode (Prichard, 1999a).

RESISTENCIA A LACTONAS MACROCICLICAS

Tanto las Avermectinas como Milbemicinas actúan como agonistas de elevada afinidad sobre la subunidad a de canales iónicos selectivos a cloro presentes en nemátodos y artrópodos (Arena et al., 1992; Cully et al., 1994; 1996).

El ligando natural en invertebrados de estos canales iónicos es el glutamato y sus receptores en los parásitos están localizados mayoritariamente en células musculares somáticas, de la bomba faríngea y del útero, y en sus respectivas neuronas asociadas, por lo que la

exposición del parásito blanco a cualquier Lactona afecta su motilidad, capacidad de alimentación y fecundidad (Cully et al., 1994; Martin, 1996; Dent et al., 1997; Laughton et al., 1997a; Gill et al., 1998; Sangster y Gill, 1999). Cuando se unen selectiva e irreversiblemente a estos receptores aumenta la permeabilidad de membrana al cloro, lo cual origina la hiperpolarización de la membrana de la célula muscular y/o neuronal del parásito blanco. Como consecuencia se produce una parálisis tipo flácida del parásito que no puede mantenerse en su sitio de localización (Arena et al., 1995; Cully et al., 1996; Dent et al., 1997; Blackhall et al., 1998). Recientemente, Prichard (2001) postuló que la parálisis muscular del cuerpo del nematode por acción de Avermectinas o Milbemicinas es el resultado de la hiperpolarización de las neuronas y, en consecuencia, de la inhibición de las señales de excitación enviadas a los músculos, y no de la inhibición directa de las células musculares corporales.

La resistencia a Avermectinas y Milbemicinas podría entonces estar asociada a modificaciones de las subunidades del receptor GluCl y/o a la expresión aumentada de una glicoproteína de membrana, Glicoproteína P (Gp P), la que posiblemente impediría alcanzar concentraciones activas de la molécula antiparasitaria en el receptor de glutamato del parásito resistente (Xu et al., 1998; Molento y Prichard, 1999; Prichard, 1999a; 1999b; Sangster et al., 1999). Varios autores demostraron que hay cuatro genes (Sangster, 1994; Xu et al., 1998) y, al menos, 40-50 diferentes alelos de Gp P en *H. contortus* (Prichard, 1999b). La Gp P está mutada o sobreexpresada en células resistentes (Geary et al., 1999). La estructura y/o la transcripción del gen de la Gp P están alterados en nemátodos resistentes a Lactonas (Xu et al., 1998). Estos autores demostraron que el ARNm de la Gp P está presente en mayores cantidades en resistentes a Ivermectina comparada con los susceptibles, lo que estaría indicando la sobreexpresión de la Gp P en nemátodos resistentes

TEST DE REDUCCION DE CONTEO DE HUEVOS

El método más confiable para detectar la resistencia a los antihelmínticos es el test *in vivo* conocido como “eficacia controlada” (Presidente, 1985) el cual compara el número de nemátodos adultos obtenidos a la necropsia en animales tratados y controles. Por los altos costos requeridos, laboriosidad y tiempo demandado, este método se encuentra prácticamente restringido a trabajos muy específicos de investigación, limitando seriamente su aplicación en situaciones de campo. Así mismo, los test *in vitro* actualmente disponibles, basados en la motilidad de las larvas o en la eclosión de huevos, presentan aún inconsistencias en la interpretación de los resultados y requieren del mantenimiento de cepas de referencia susceptibles y resistentes, condicionando por el momento su uso.

Por lo expuesto anteriormente, hasta el presente el método más utilizado en todo el mundo para detectar resistencia de los nemátodos ha sido el test de la reducción del conteo de

huevos (TRCH) el cual compara los valores del h.p.g. antes y luego del tratamiento (Presidente, 1985; Taylor et al, 2002). Se asocia la presencia de resistencia antihelmíntica cuando la reducción entre ambos valores del h.p.g. resultan inferiores al 90 % y en forma complementaria, este test requiere del cultivo de larvas en las muestras pre y post tratamiento para determinar la participación relativa de cada género parasitario (McKenna, 1996 b). El TRCH puede ser utilizado en todas las especies de animales domésticas y las recomendaciones e información general para su empleo fueron realizadas por la Asociación Mundial para el Desarrollo de la Parasitología Veterinaria o W.A.A.V.P. (Coles et al, 1992). En rumiantes, los resultados del test deben ser considerados solo una estimación de la eficacia antihelmíntica debido a que la postura de huevos por los nemátodos no siempre guarda una estrecha correlación con la carga parasitaria (Suárez 1994). En este contexto, el test podría mostrar mayor eficiencia con géneros que tienen un alto potencial biótico y / o con buena correlación entre el número de huevos y el de nemátodos como por ejemplo *Haemonchus*, pero podría ser menor cuando se considera al género *Ostertagia*. Otra de las limitantes del test es su baja sensibilidad ya que solo permitiría detectar resistencia cuando la frecuencia de genes resistentes en una población excede el 25 % y ya se observan fallas clínicas al tratamiento (Martin et al, 1989; Sangster 2001).

En nuestro país y ante la presencia de los primeros casos de resistencia en bovinos, Fiel y colaboradores (2001 b) realizaron una actualización de dicho test describiendo los requerimientos específicos para su empleo en esta especie y asociando la presencia de resistencia a porcentajes de reducción en el h.p.g. inferiores al 90 % e indicando un período de 14-15 días para la toma de muestras luego del tratamiento antihelmíntico. No obstante, y debido a que el TRCH estima los efectos del tratamiento sobre la postura de huevos por los nemátodos adultos, el período de espera para la toma de muestras luego del tratamiento debería adaptarse al grupo químico utilizado para evitar la posibilidad de errores en su interpretación. Así por ejemplo, estudios posteriores a las primeras recomendaciones sobre el TRCH en bovinos realizados en nuestro país, muestran que en terneros inoculados con un aislamiento de *C. pectinata* y tratados con moxidectina, las reducciones del hpg podrían ser consideradas como susceptibles o resistentes de acuerdo al día en que se toma la muestra post tratamiento. También en terneros inoculados con este mismo aislamiento y posteriormente tratados con ivermectina, se observaron generalmente valores superiores del h.p.g. cuando las determinaciones se realizaron en el día 20 comparadas con las correspondientes al día 12 luego del tratamiento. De este modo y cuando se utilicen lactonas macrocíclicas, las evaluaciones post tratamiento deberían demorarse preferentemente hasta los día 18 a 20 para evitar la posibilidad de falsos negativos. Observaciones similares fueron descritas previamente en ovinos y caprinos inoculados con cepas resistentes de *Teladorsagia circumcincta* y se deberían a la inhibición

temporaria de la oviposición producida durante las primeras dos semanas post tratamiento con avermectinas, la cual se restablecería parcialmente luego de este período (Jackson, 1993).

Por el contrario cuando se emplean antiparasitarios en base a levamisoles, debe considerarse que estas drogas normalmente no actúan contra larvas hipobióticas y que incluso pueden presentar actividad incompleta contra otros estadios inmaduros de ciertos nemátodos. De este modo la utilización de períodos mayores a los 7 días puede dar lugar a la maduración y oviposición de los estadios inmaduros susceptibles resultando en falsos positivos en el TRCH (Grimshaw et al, 1996).

CULTIVO Y RECUPERACIÓN DE LARVAS INFECTIVAS:

La técnica descrita anteriormente, junto al cultivo de las heces que presentan mayor recuento de huevos, permite determinar los géneros actuantes en la infección. A la observación en el microscopio, los huevos de nematodos presentan características similares en cuanto a tamaño y morfología, dando lugar a una difícil diferenciación de género. A partir de lo descrito, el coprocultivo se basa en promover la maduración y eclosión de los huevos, con la evolución de larvas hasta el estadio tres (L3). La técnica que se utiliza para la realización del coprocultivo es la técnica de Henriksen y Korshlom (1983). Mediante el empleo de esta técnica pueden observarse las características morfológicas individuales, pudiendo diferenciar por género y especie (Fiel, et al 2011).

IDENTIFICACIÓN DE LARVAS INFECTIVAS DE NEMATODOS INTESTINALES:

El complemento entre recuento de huevos en materia fecal y el coprocultivo adquirieron un valor de mayor importancia a partir de los casos que se han encontrado de resistencia. Es imprescindible saber cuál/es géneros parasitarios son resistentes a un fármaco antihelmíntico a efectos de establecer la gravedad del caso, el pronóstico y las medidas de manejo a proseguir.

HIPOTESIS

El establecimiento “Don Alfredo” presenta resistencia antihelmíntica a una o más drogas antihelmínticas.

OBJETIVOS

-Determinar y valorar la carga de parásitos gastrointestinales en bovinos en un rodeo de invernada del sur de Córdoba con antecedentes de casos clínicos de parasitosis gastrointestinal.

-Determinar los géneros parasitarios presentes en bovinos de un rodeo de invernada del sur Córdoba.

-Evaluar la eficacia antihelmíntica de cuatro principios activos de amplio espectro con una prueba de eficacia a campo.

-En caso de ineficacia para una o más drogas antihelmínticas, determinar los géneros parasitarios resistentes para cada una de ellas.

MATERIAL Y METODOS

Establecimiento: El establecimiento está en las proximidades de la localidad de Del Campillo, registrado bajo la denominación de “Don Alfredo”. Es un establecimiento de



Figura 4. Ubicación geográfica del establecimiento en donde se realizó el presente estudio.

actividades agrícola-ganadera que destina parte de su superficie a la cría y terminación de novillos para exportación y otra parte a la agricultura. La distribución para cada una de las actividades es la siguiente: 250 hectáreas para ganadería y 200 para el resto de las actividades, teniendo una superficie total de 450 hectáreas. Está ubicado a 15 kilómetros al sur de la localidad de Del Campillo (-34°48'016``S; 64°54'872``O), Córdoba (Figura 4).

Los animales provienen de diferentes orígenes, principalmente de las provincias de San Luis y Buenos Aires. Cuenta con un stock permanente de 300 animales en su mayoría Aberdeen Angus negro y colorado, Hereford y Brangus.

Continuamente los animales pastorean lotes de alfalfa y cultivos anuales como avena, centeno y sorgo; y dos meses antes de faenarse son llevados a corral para su terminación donde se los alimenta con silo de maíz y grano de maíz.

Al momento de la consulta el dueño del establecimiento advierte que algunos animales presentan diarrea, sumidos de condición corporal y pelo hirsuto. Además manifiesta que 57 días atrás habían recibido tratamiento antihelmíntico con ivermectina al 1% (Ivomec® MSD) a la dosis convencional indicada por el fabricante de 1 ml por cada 50 kilogramos de peso vivo haciendo una estimación visual del peso de los animales. Dicho tratamiento se había realizado de rutina por la época del año, sin diagnóstico previo de laboratorio, siendo marzo el mes en el que fue realizado.

TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS (TRCH)

Selección de animales: se tomo muestras de 45 animales a medida que pasaban por la manga, a la vez que se registraba el número de caravana de cada uno. Todos animales de 1,5 años de edad y un peso promedio de 250-300 kg, sin importar si presentaban sintomatología clínica (Figuras 5, 6 y 7).



Figura 5. Novillo con cuartos posteriores sucios con materia fecal que sugiere la presentación de diarrea



Figura 6. Algunos animales bajo estudio que presentaban estado corporal deficitario



Figura 7. Otros animales del grupo bajo estudio presentaban estado corporal óptimo

Toma de muestras: se tomaron muestras de heces de los animales del lote del que se sospechaba la presencia de parásitos gastrointestinales y a los cuales se someterían al test de reducción del conteo de huevos en materia fecal (TRCH). Las muestras se obtuvieron directamente del recto en bolsas de nylon individuales, a medida que los animales pasaban por la manga. En total se muestrearon 60 animales (Figura 8).

Una vez tomadas las muestras las mismas se transportaron refrigeradas hasta el Laboratorio de Parasitología del Departamento de Patología Animal (UNRC) y se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento, 24 hs posteriores.



Figura 8. Toma de muestra en la manga con bolsa de polietileno directamente del recto

Procesamiento de las muestras: se realizo en el Laboratorio de Parasitología del Departamento de Patología Animal (UNRC) con la técnica de McMaster modificado (Roberts y O' Sullivan, 1949).

Técnica de McMaster modificada

Se emplea la cámara de Mc Master modificada por Roberts y O'Sullivan, que consta de 4 celdas de 1 x 2 cm de lado y 2,5 mm de espesor. Cada celda tiene 0,5 ml y el conjunto 2 ml. La cara inferior de la tapa que cubre la cámara está dividida en franjas, cuyo ancho es abarcado por el campo de un microscopio común cuando se enfoca con el objetivo de 10 X.

Materiales:

- Balanza
- Mortero con pilón
- Cucharas plásticas descartables
- Solución sobresaturada de cloruro de sodio (Solución de Willis)
- Envases graduados en 100 ml, uno con tapa hermética
- Colador común
- Cámara de Mc Master
- Pipeta plástica tipo Pasteur

Procedimiento para heces bovinas:

1) Pesar 5 gr de materia fecal y colocar en un mortero (Figura 9). Agregar 100 ml de solución sobresaturada de NaCl. Si no poseemos balanza para pesar la muestra se pueden medir 5 cc. de materia fecal con una jeringa plástica de 5-10 cc. a la que le cortamos el pico donde encaja la aguja junto con su base, bien al ras de la primera marca. Se asume que 1 cc. de materia fecal pesa 1 gramo. Las cantidades de materia fecal y solución pueden variar, siempre y cuando se conserve la relación 1:20 (materia fecal: solución salina).



Figura 9. Pesado de 5 gramos de materia fecal con balanza

2) Mezclar para disolver las heces. Se puede facilitar el procedimiento con batidora eléctrica (Figura 10).



Figura 10. Mezclado de la solución de Willis con la materia fecal en mortero

3) Filtrar a través de un tamiz a un vaso.(Figura 11)



Figura 11. Filtrado de la mezcla a través de un tamiz para retener las partículas mas groseras

4) Mezclar suavemente con cuchara el producto del filtrado evitando la formación de burbujas (Figura 12).



Figura 12. Homogeneizar bien la mezcla previo a la carga de la cámara es un paso clave para la confiabilidad de los resultados.

5) Tomar rápidamente una muestra con pipeta y cargar las cuatro celdas de la cámara (Figura 13).



Figura 13. Cargar la cámara con pipeta cuidando de no excederse en la cantidad y de no ingresar burbujas en la misma

6) Esperar 5 minutos para que los huevos asciendan hasta la “tapa” superior de la cámara, y queden todos en el mismo plano de foco (Figura 14).



Figura 14. Luego de la carga de la cámara, dejar reposar un mínimo de 5 minutos previo a su lectura y no mas de 60 minutos

- 7) Observar al microscopio con objetivo 10x (Figura 15).

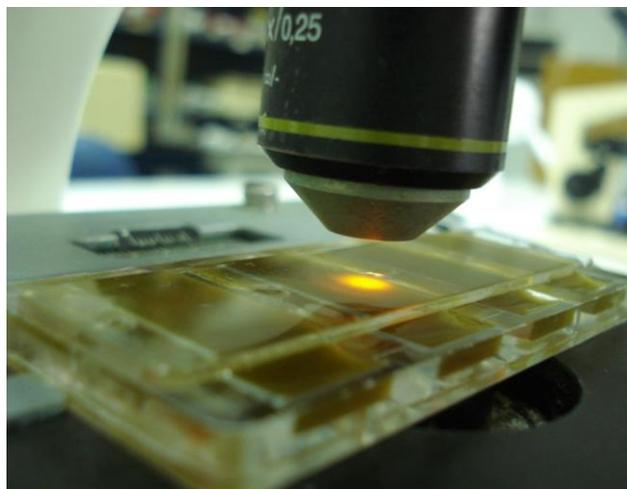


Figura 15. Enfocar la cámara con el menor aumento (4x ó 5x). Luego pasar a objetivo de 10x y comenzar con la lectura

CALCULO EL HPG

Lo primero que se debe determinar para el cálculo del hpg es la cantidad de materia fecal que se dispone en la cámara. Recordando que se parte de una dilución de 5 gramos de materia fecal en 100 ml de solución de Willis. De ésta dilución se carga la cámara con 2 ml de esa mezcla ya que esa es la capacidad de la cámara, que tiene cuatro celdillas con 0,5 ml de capacidad (Figura 16).

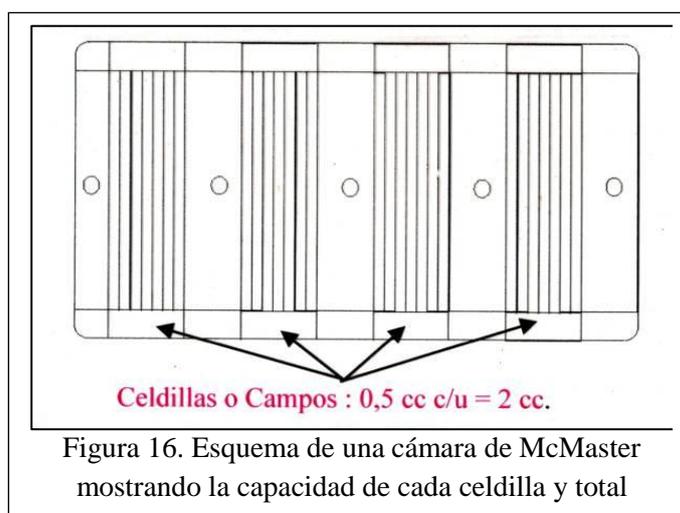


Figura 16. Esquema de una cámara de McMaster mostrando la capacidad de cada celdilla y total

Por lo que debemos determinar cuántos gramos de materia fecal contenemos en esos 2 ml. La ecuación sería la siguiente:

100 ml de suspensión _____ 5 gr. de heces

2 ml de suspensión _____ X

$$X = 2 \times 5 / 100 = 0,1 \text{ gr de heces}$$

Es decir que en esos 2 ml que se colocaron en la cámara hay 0,1 gr de materia fecal. Por lo que el número de huevos contados en la cámara (es decir en 2 ml que tiene la cámara completa) corresponde a 0,1 gr de heces. Dado que el resultado se debe expresar en cantidad de huevos por gramo de materia fecal, significa que a la cantidad de huevos que se cuenten en la cámara se debe multiplicar por 10. Entonces el índice por el que se debe multiplicar el número de huevos totales cuando contemos las cuatro celdillas de la cámara (cámara completa) es 10.

FORMACIÓN DE LOS GRUPOS PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST

Una vez obtenidos los valores de hpg (Tabla 1) para la totalidad de los animales muestreados se seleccionarán aquellos que tengan valores iguales o superiores a 100 hpg. Hecho esto se ordenan de menor a mayor y se van distribuyendo en ese orden, uno a uno para cada grupo de droga a evaluar, de manera que queden constituidos todos los grupos de forma homogénea en función al promedio de hpg de acuerdo a lo indicado por Coles et al., 1992.

En la tabla 1 se muestran los resultados de los hpg iniciales pre tratamiento de los animales bajo estudio

ID	HPG	ID	HPG
13	420	532	220
16	160	533	10
25	340	539	280
27	520	551	440
32	80	552	330
45	740	564	360
104	40	565	400
408	40	566	520
425	320	569	270
431	240	572	560
437	280	573	520
441	710	574	140
442	520	605	40
449	80	836	440
451	160	894	280
453	260	916	520
458	80	925	460
464	560	928	440
508	280	930	10
516	320	934	170
524	340	953	380
525	800	958	40
531	840		

Tabla 1. Resultados de hpg pre tratamientos (ID=Identificación del animal. HPG=huevos por gramo de materia fecal)

A partir del conteo realizado, todo animal que obtuvo valor igual o mayor a 100 HPG fue seleccionado para la prueba según se indica el protocolo para la realización del TRCH (Coles, 2001). De los animales que reunieron los requisitos para realizar la prueba, se formaron cuatro grupos homogéneos de acuerdo al promedio de sus hpg (Coles et al., 1992). Una vez que los grupos quedaron conformados, cada uno de éstos animales recibió un tratamiento antihelmíntico con la droga que le correspondiere a medida que fueran pasando por la manga, de modo que (Figura 17):

- 9 animales fueron tratados con Ricobendazol 15% (vía subcutánea)- Ricomax[®], de laboratorio Over
- 9 con Doramectina 1% (vía subcutánea) - Dectomax[®] de Zoetis AR

- 9 con Ivermectina - Ivomec® (vía subcutánea) - Boehringer Ingelheim Animal Health Argentina S.A.
- 9 con Febendazol (vía oral) - Axilur® MSD Salud Animal.



Debido al bajo recuento general que presentaron los animales, probablemente por la edad de los mismos o por la proximidad del tratamiento anterior que habían recibido, no pudieron conformarse cuatro grupos de 10 animales cada uno (40 animales totales). Por lo que se terminaron conformando cuatro grupos de nueve animales cada uno.

Luego de 15 días de la administración de los antihelminticos, se volvieron a tomar muestra de los animales para completar el TRCH, tomando las muestras bajo las mismas condiciones que se hizo el muestreo pre tratamiento, y llevandolas al laboratorio para hacer el analisis coproparasitologico, acondicionadas en caja de tergopol refrigeradas a 4°C.

La eficacia antihelmintica se evaluó mediante el test de reducción de hpg (TRCH) sin grupo testigo, basado en el procedimiento “*Antes y después*” y mediante la fórmula indicada por Mckenna (2006):

$$\text{Eficacia} = 100 - ((\text{Promedio hpg pos tratamiento} \times 100) / \text{Promedio hpg pre tratamiento})$$

RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los resultados del TRCH diferenciados para cada droga antihelmintica utilizada.

IVERMECTINA	hpg	hpg	FEBENDAZOL	hpg	hpg	DORAMECTINA	hpg	hpg	RICOBENDAZOL	hpg	hpg
	PRE	POS		PRE	POS		PRE	POS		PRE	POS
16	160	0	13	420	10	451	160	0	441	710	0
27	520	0	25	340	0	464	560	0	453	260	0
45	740	0	425	320	0	524	340	0	516	320	0
431	240	10	531	840	10	525	800	0	564	360	20
437	280	0	532	220	10	574	140	0	565	400	10
508	280	0	539	280	0	573	520	0	442	520	0
551	440	30	569	270	0	916	520	0	552	330	0
566	520	0	572	560	0	928	440	0	894	280	40
836	440	0	953	380	0	934	170	0	925	460	20
PROMEDIOS	402.22	4.44		403.33	3.33		405.56	0.00		404.44	10.00

Tabla 2. Resultados del TRCH en donde se muestran los hpg PRE y POS tratamientos para Ivermectina, Febendazol, Doramectina y Ricobendazol con sus promedios de hpg respectivos

A partir de las muestras que tuvieron valores de h.p.g superiores a 100, se calculó el promedio de hpg y el % de eficacia clínica mediante el TRCH. Se muestra en el Gráfico 1 la eficacia de cada tratamiento.

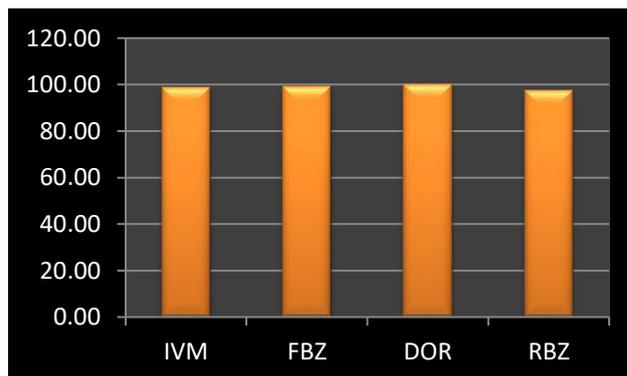


Gráfico 1. Porcentaje de eficacia para cada droga antihelmíntica evaluada en el TRCH (IVM=ivermectina; FBZ=febendazol; DOR=doramectina; RBZ=ricobendazol)

Una vez terminado el conteo de hpg, se realizó un pool de materia fecal y con este se elaboró un cultivo de larvas para detallar cuáles eran los géneros que estaban presentes. Debido a que no se detectó ineficacias de los AH utilizados, no fue necesario realizar cultivo pos tratamiento.

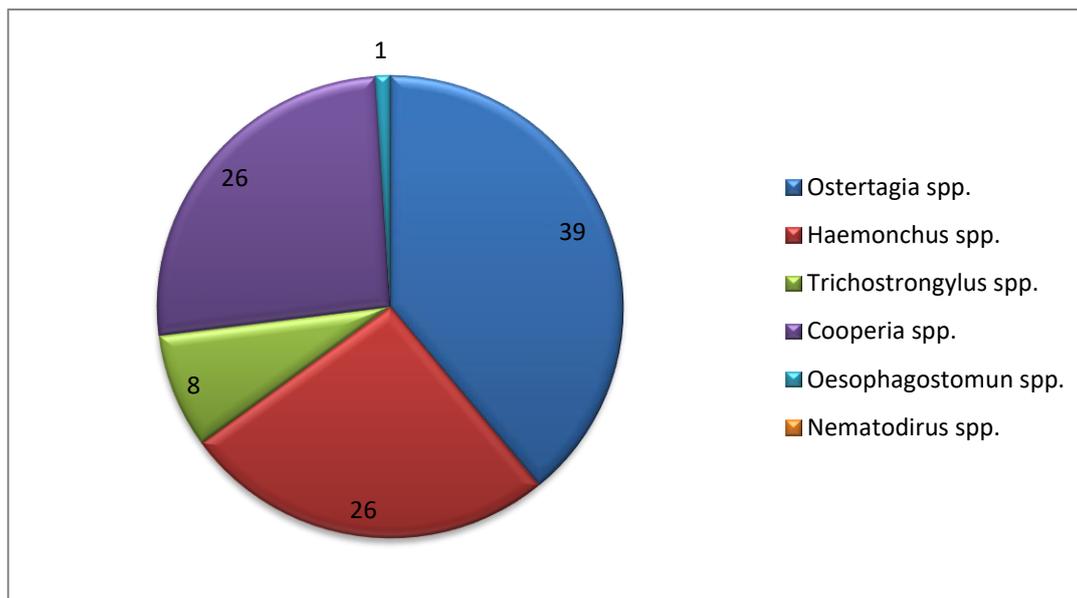


Gráfico 2. Géneros obtenidos por cultivo de larvas de la materia fecal post tratamiento

DISCUSIÓN.

Mediante el cultivo de larvas se encontro que la especie mas predominante es *Ostertagia* spp, *Haemonchus* spp y *Cooperia* spp, siendo mayormente predominante *Ostertagia* spp coincidiendo con los resultados obtenidos por EEA INTA Anguil (Suarez 2005), San Luis (Rossanigo, 1992) y Marcos Juarez (Desacarga, 2012). Mejia y col. (2003), encontraron que el genero mas prevalente *Cooperia oncophora* y no *Ostertagia*, por lo tanto no concide con sus resultados. Estas diferencias pueden atribuirse a que la predominancia de los diferentes géneros está fuertemente influenciada por diferentes factores como por ejemplo región geográfica, clima, edad de los animales entre otros (Fiel et al., 2001 a).

La procedencia de los animales junto con la localización del establecimiento sumado a la epoca del año y al estado corporal de los animales, daban idea de parasitismo gastrointestinal. Adicionalmente existía sospechas de Resistencia Antihelmintica ya que se habían desparasitado en un pasado próximo, pero los resultados no lo confirmaron. Esto pudo deberse al correcto uso de los antihelminticos que se van cambiando año a año, y en algunos casos combinando drogas con diferentes modos de acción. La combinación de drogas con diferentes modo de acción es sugerida actualmente como alternativa para demorar la aparición de los fenómenos de resistencia o para controlar poblaciones parasitarias con existencia ya declarada (Bartram et al., 2012; Geary et al., 2013; Leathwick et al., 2009). junto con la correcta rotacion de cultivos y praderas para evitar la interaccion huesped-hospedero.

La eficacia de los tratamientos fue muy buena, y estuvo dentro del rango esperado para antihelmínticos con eficacia probada. Algo mas reducida para Ricobendazol que obtuvo 97,5% pero no indicativa de Resistencia Antihelmintica ya que lo establecido por Coles et al. (1992) y

Fiel et al (2001b) debe ser inferior a 90% para que sea indicativo de está. El resto de los antihelmínticos obtuvieron una eficacia por encima del 98,9 %.

CONCLUSIONES

En el establecimiento bajo estudio se encontró presencia de nemátodos gastrointestinales que arrojaron valores variables de HPG. Lo cual indica cantidades variables de parásitos gastrointestinales.

Los generos presentes en dicho lugar fueron *Ostertagia* spp, *Haemonchus* spp, *Cooperia* spp, *Trichostrongylus* spp y *Oesophagostomun* spp. Siendo *Ostertagia* spp el género que tuvo mayor participación.

La eficacia de los antihelminticos utilizados fue buena, y ninguno presento problemas de ineficacia al TRCH en las condiciones en la que fue evaluado. Por los conteos encontrados, teniendo en cuenta que los animales habían sido desparasitados unos 60 días previos al presente estudio, podría haber existido una falla en el tratamiento anterior agena a la eficacia de las drogas utilizadas, debido, por ejemplo, a incorrecta administracion ya sea de vías o dosis, desparasitaciones parciales, desvíos epidemiológicos debido a aspectos climáticos, o parcelas muy contaminadas.

Las combinaciones de drogas antihelmínticas con diferente modo de acción (comunes en Nueva Zelanda y Australia) aparecen como un recurso que merece ser evaluado bajo nuestras condiciones productivas en algunas especies de rumiantes y regiones pero, en otras, su utilidad puede ser dudosa y mayor información sobre posibles efectos aditivos o sinérgicos de esta coadministración de drogas es necesaria antes de su recomendación. En este complejo contexto que representa la RA, y a criterio de los autores, los antihelmínticos deberían ser obtenidos por los productores y/o propietarios exclusivamente a partir de una indicación profesional escrita por el médico veterinario a cargo del asesoramiento del establecimiento. Esto debería propender al uso más apropiado y responsable de un recurso limitado como son las drogas antiparasitarias.

BIBLIOGRAFÍA.

ANZIANI, O; ZIMMERMANN, G; GUGLIELMONE, A; VASQUEZ, R; SUAREZ, V. 2001 Resistencia a las ivermectinas de bovinos parasitados por *Cooperia* spp. Comunicación preliminar. Vet. Arg. 164: 280- 281.

ARENA, J. P.; LIU, K. K.; PARES, P. S.; FRAZIER, E. G.; CULLY, D. F.; MROZIK, H.; SCHAEFFER, J. M., 1995, The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. J. Parasitol., 8: 286-94

ARENA, J. P.; LIU, K. K.; PARES, P. S.; SCHAEFFER, J. M.; CULLY, D. F., 1992, Expression of a glutamate-activated chloride current in *Xenopus* oocytes with *Caenorhabditis elegans* RNA: evidence for modulation by avermectin. Brain Res. Mol. Brain Res., 8: 286-94.

ARMOUR J.; OGBOURNE C.P. 1982. Bovine ostertagiosis: a Review and Annotated Bibliography. Miscellaneous publication N°7 of the Commonwealth Institute Parasitology (Commonwealth Agriculture Bureaux, ed.), Farham Royal Bucks, UK:93

BARTRAM , D.J.; LEATHWICK , D.M.; TAYLOR , M.A.; GEURDEN , T.; MAEDER , S. J. 2012. The role of combination anthelmintic formulations in the sustainable control of sheep nemátodes. Vet. Parasitol. 186: 151-158.

BLACKHALL, W. J.; POULIOT, J. F.; PRICHARD, R. K.; BEECH, R. N., 1998, *Haemonchus contortus*: Selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. Exp. Parasitol., 90: 42-48.

CARACOSTANTÓGOLO, J; CASTAÑO, R; CUTULLE Ch; CETRA, B; LAMBERTI, R; PLORUTTI, F; SCHAPIRO, J; EDDI, C. 2005. Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. FAO. Serie Producción y Sanidad Animal Pág. 7-14.

CETRA, B. 2016. Resistencia antihelmíntica en bovinos en provincia de Corrientes y Argentina. ISSN N° 0327-3059. N534.

COLES G.C., WATSON C.L. & ANZIANI O.S. (2001). Ivermectin resistance *Cooperia* in cattle. Vet. Rec. **148**: 283-284.

COLES, G. C.; BAUER, F.H.M.; BORGSTEEDE, S.; GEERST, T.R.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. 1992. Methods for detection of anthelmintic resistance in nemátodes of veterinary importance. Vet. Parasitol., 44: 35-44.

CULLY, D. F.; PARESS, P. S.; LIU, K. K.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P., 1996, Identification of a *Drosophila melanogaster* glutamate-gated chloride channel sensitive to the antiparasitic agent ivermectin. *J. Biol. Chem.*, 271: 20187-20191.

CULLY, D. F.; VASSILATIS D. K.; LIU, K. K.; PARESS, P. S.; VAN DER PLOEG, L. H.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P., 1994, Cloning of an ivermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 371: 707-11.

CULLY, D. F.; PARESS, P. S.; LIU, K. K.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P., 1996, Identification of a *Drosophila melanogaster* glutamate-gated chloride channel sensitive to the antiparasitic agent ivermectin. *J. Biol. Chem.*, 271: 20187-20191.

DENT, J. A.; DAVIS, M. W.; AVERY, L., 1997, *avr-15* encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. *Embo J.*, 16: 5867-5879.

DESCARGA, C. O.; KLOSTER, A. M.; DAVIES, P. Y MAGNASCO, R. 1988. Epizootiología y efecto de la parasitosis gastrointestinal sobre la ganancia de peso en vaquillonas de cría Holando Argentino. VI Congreso Argentino de Veterinaria.

DESCARGA, C; URBANI, L.A.; KLOSTER, A.M. 2012. Dinámica de la resistencia de los nemátodos gastrointestinales a la ivermectina en un sistema de invernada bovina. INTA Marcos Juarez. ISSN 1851-9229.

FAO, 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Boletín 157. Roma.

FERNÁNDEZ, A.S.; FIEL, C.A.; RODRÍGUEZ, E.M.; SOMINSON, P. y FUSÉ, L.A. 1994. Endoparasitosis en vaquillonas lecheras de cría. Su epidemiología y control. *Vet. Arg.* Vol. XI. N° 106:374-389.

FERNÁNDEZ, A.S.; FIEL, C.A.; RODRÍGUEZ, E.M.; SOMINSON, P. y FUSÉ, L.A. 1994. Endoparasitosis en vaquillonas lecheras de cría. Su epidemiología y control. *Vet. Arg.* Vol. XI. N° 106:374-389.

FIEL, C.A., STEFFAN, P.E, VERCESI H.M., AMBRÚSTOLO, R., CATANIA, P., CASARO A., ENTROCASSO C., BIONDANI C. 1988. Variación estacional del parasitismo interno de bovinos en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) con especial referencia al fenómeno de hipobiosis. *Rev: Med.Vet* 81: 4, 57-64.

FIEL, C. A.; ANZIANI, O.; SUÁREZ, V.; VÁZQUEZ, R.; EDDI, C.; ROMERO, J.; CARACOSTANTO GOLO, J.; C. SAUMELL, C.; MEJÍA, M.; COSTA, J. Y STEFFAN, P.

2001a. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. Vet. Arg. Vol. XVIII, 171:21-33.

FIEL, C. A.; SAUMELL, C. A.; STEFFAN, P. A. AND RODRIGUEZ, E. M. 2001b. Resistance of *Cooperia* to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa, Argentina. Vet. Parasitol.97:211-217.

FIEL, C., STEFFAN, P., ENTROCASSO, C. 2013. Epidemiología e impacto productivo de nematodos en la Pampa Húmeda. En: Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes, Fiel, C. y Nari, A. (Editores), Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., ISBN 978-9974-674-35-6, pp. 29-58.

FIEL, C.A., STEFFAN, P.E. Y FERREYRA D.A. 2011. Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: Técnicas de laboratorio e interpretación de resultados, C. Fiel - Pfizer San. Anim. (Eds.), Programa de Control Parasitario Sustentable, CPS, ISBN 978-987-33-1502-2, p. 143

GARRIZ, C. A.; GALLINGER, M. .M.; TOURAILLE, C.; STEFFAN, P. E.; FIEL, C. A.; AMBRÚSTOLO, R. R.; BIONDANI, C. A.; ZAMORANOS, M. AND BULMAN, G. M. 1987. Gastrointestinal parasitism: Its effects on muscle, fat and bone composition of the carcass and organoleptic characteristics of meat. In the economic impact of parasitism in cattle. Eds. W. H. D. Leaning and J. Guerrero. Proceedings of the MSD AGVET Symposium, Montreal, Canada. Pp 59-68.

GASBARRE L.C. 1997. Effects of gastrointestinal nematode infection on the ruminant immune system. Vet. Parasitol. 72:327-343.

GILL, J.; KERR, C.; SHOOP, W.; LACEY, E., 1998, Evidence of multiple mechanisms of avermectin resistance in *Haemonchus contortus* -comparison of selection protocols. Int. J. Parasitol., 28: 783-789.

GRIMSHAW W.T.R., HONG C.& HUNT K.R. (1996). Potential for misinterpretation of the faecal egg count reduction test for levamisole resistance in gastrointestinal nematode of sheep. Vet. Parasitol. 62: 267-273

HENRIKSEN, SV. A.A. ; KORSHOLM, H. 1983. A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. Nord. Vet. Med., 35:429-430.

JACKSON F. 1993. Anthelmintic resistance - the state of play. *Br Vet J* 149, 123-138.

LACEY, E., 1988, The role of the cytoskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazole. *Int. J. Parasitol.*, 18: 885-936.

LACEY, E.; PRICHARD, R. K., 1986, Interaction of benzimidazoles (BZ) with tubulin from BZ-sensitive and BZ-resistant isolates of *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 19: 171-181.

LANUSSE, C. E.; PRICHARD, R. K., 1993, Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet. Parasitol.*, 49: 123-158.

LAUGHTON, D. L.; LUNT, G. G.; WOLSTENHOLME, A. J., 1997a, Reporter gene constructs suggest that the *Caenorhabditis elegans* avermectin receptor b-subunit is expressed solely in the pharynx. *J. Exp. Biol.*, 200: 1509-14.

LEATHWICK DM, HOSKING BC, BISSET SA, MCKAY CH. 2009. Managing anthelmintic resistance: Is it feasible in New Zealand to delay the emergence of resistance to a new anthelmintic class? *N Z Vet J*; 57(4): 181-92. PMID:19649011.
<http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2009.36900..>

LUBEGA, G. W.; PRICHARD, R. K., 1991, Interaction of Benzimidazole anthelmintics with *Haemonchus contortus* tubulin: binding affinity and anthelmintic efficacy. *Exp. Parasitol.*, 73: 203-213.

MARTIN, P.J., ANDERSON, N. & JARRETT, R.G. 1989. Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction tests and in vitro assays. *Aust. Vet. Jour.* 66: 236-240

MARTIN, R. J., 1996, An electrophysiological preparation of *Ascaris suum* pharyngeal muscle reveals a glutamate-gated chloride channel sensitive to the avermectin analogue milbemycin D. *Parasitol.*, 112: 247-52.

MARTIN, R. J., 1997, Modes of action of anthelmintic drugs. *Vet. J.*, 154: 11-34.

MCKENNA P.B. 1996 b. Potential limitations of the undifferentiated faecal egg count reduction test for the detection of anthelmintic resistance in sheep. *New Zealand Vet. Jour.* 44: 73-75

McKENNA P. B., 2006. Further comparison of faecal egg count reduction test procedures: Sensitivity and specificity. *N. Z. Vet. J.*, 54: 362-366.

MEJIA, M. E., FERNANDEZ IGARTÚA, B.M., SCHMIDT, E.E. & CABARET, J. 2003. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nemátodes in a farm in Argentina: the begining of high resistance?. *Vet. Res.* 34: 461-467.

MILLER H.R. 1984. The protective mucosal response against gastrointestinal nematode in ruminants and laboratory animals. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 6:167-259.

MOLENTO, M.; PRICHARD, R. K., 1999, Effects of multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*). *Parasitol. Res.*, 85 (2): 1007-1011.

MORENO-GUZMÁN, M. J.; COLES, G. C.; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, A.; CRIADO-FORNELIO, A.; ROS-MORENO, R. M.; RODRÍGUEZ-CAABEIRO, F., 1998, Levamisole binding sites in *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.*, 28: 413-418.

PRATT, W. 1990. Drug resistance. En: *Principles of Drug Action*. Third edition. pág. 565-637..

PRESIDENTE P.J.A. (1985). Methods for the detection of resistance to anthelmintics. In: Anderson, N., Waller, P.J. (Eds). *Resistance in nemátodes to Anthelmintic Drugs* Division of Animal Helath, CSIRO, Australia, pp 13 – 27.

PRICHARD, R.K., HALL, C.A., KELLY, J.D., MARTIN, I.C.A. AND DONALD, A.D., 1980. The problem of anthelmintic resistance in nématodes. *Aust.Vet.J.* 56, 239-251

PRICHARD, R. 1994. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 54: 259-268.

PRICHARD, R., 1999. Drug resistance. *Int. J. Parasitol.*, 29: 137-138.

PRICHARD, R., 1999a, Mechanisms of anthelmintic resistance in parasitic nemátodes. XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Salvador, Brasil. pág. 20-21.

PRICHARD, R., 1999b, Drug resistance. *Int. J. Parasitol.*, 29: 137-138.

Prichard, R., 2001, Mode of action and mechanisms of resistance: moxidectin and the macrocyclic lactones. En *Proceedings of 18 th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, pág. 1-12.

REW, R. S.; FETTERER, R. H. 1986. Modes of action of antinematodal drugs. En: Chemotherapy of parasitic diseases. Ed. W. C. Campbell and R. S. Rew, pág. 231-24.

ROBERTSON, A.; BJORN, H.; MARTIN, R. J., 1999, Resistance to levamisole resolved at the single-channel level. *Faseb J.*, 13 (6): 749-60

ROSSANIGO, C; ÁVILA, J; SAGGER, R; 1992. Parásitos gastrointestinales de los rumiantes. Estudios realizados en la zona de San Luis. INTA EEA San Luis

SANGSTER, N. C.; GILL, J., 1999, Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitol. Today*, 15: 141-146.

SANGSTER, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. *Vet. Parasitol.* 98: 89-109.

SARAVIA, A. 2008. Control de parásitos gastrointestinales: afinando la estrategia. *Boletín agropecuario-Bienestar y salud animal*, Rev N° 128..

STEFFAN, P.E., FIEL, C.A. y FERREYRA, D.A., 2012. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción: Aspectos básicos de consulta rápida. Ed. Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (IPCVA), Programa de Control Parasitario Sustentable, ISBN 978-987-27689-0-4, 112 pág

STEFFAN, P.E. y FIEL, C.A. 1994. Efectos en producción y control de nemátodos gastrointestinales en bovinos, en: Nari, A. y Fiel, C.A. (Eds.), *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control*, Hemisferio Sur (R.O.U.), pp. 131-153.

SUAREZ V.H. y CRISTEL S., 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina, *Vet. Parasitol.* 144, 111-117

SUÁREZ, V H. 2005. Parásitos internos en la invernada bovina. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar / www.produccionbovina.com.ar

SUÁREZ, V. H. 1994. Epidemiología de los nemátodos gastrointestinales en la región Subhúmeda y Semiárida Pampeana, en: Nari, A. y Fiel, C. A. (Eds.), *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control*, Hemisferio Sur (R.O.U.), pp. 95-114

TAYLOR M.A., HUNT K.R. & GOODYEAR K.L. 2002) Anthelmintic resistance detection methods. *Vet. Parasitol.* **103** : 183-194.

WILLIAMS, J. 1986. Importancia, epidemiología y control de los parásitos gastrointestinales. Resumen de las disertaciones del 2º Simposio Internacional de Actualización Parasitaria, Bs. As. MSD AGVET, 5-11. . www.produccion-animal.com.ar.

XU, M.; MOLENTO, M.; BLACKHALL, W.; RIBEIRO, P.; BEECH, R.; PRICHARD, R. K., 1998, Ivermectin resistance in nemátodos may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 91: 327-335.