

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**BENCIMIDAZOLES: EVALUACIÓN DE LA POTENCIA Y DOSIS EN EL CONTROL
ANTHELMÍNTICO DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN OVINOS**

Por

**HOLZMANN ELIZONDO, Esteban Martín
QUEVEDO PIASTRI, Micaela**



TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: ENSAYO EXPERIMENTAL

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2012**



FV-29625

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tutor de Tesis de Grado:



Dr. Gonzalo Suárez

Tesis de Grado aprobado por:

Presidente de Mesa:



Dr. José M. Venzal

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Gonzalo Suárez

Tercer Miembro:



Dr. Armando Nari

Cuarto Miembro:



Prof. Oscar Correa

Fecha: 20 de Agosto de 2012.

Autores:



Esteban Holzmann Elizondo



Micaela Quevedo Piastrri

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias por el apoyo incondicional brindado en todo momento, porque sin ellos no podría haber sido posible nuestra formación profesional y en especial por inculcarnos valores que hacen que nos esfuércenos por intentar ser mejores personas cada día. A los amigos de facultad y de la vida por estar presentes en diversos momentos y por los consejos que nos han brindado.

A nuestro tutor Dr. Gonzalo Suárez por brindarnos tiempo, materiales, enseñanzas, conocimientos, etc., permitiéndonos realizar el proyecto final de nuestra carrera.

A nuestro co-tutor Oscar Correa por el aporte de materiales de laboratorio, conocimientos, por poner a disposición el laboratorio de parasitología y por el tiempo dedicado a esta tesis.

Al Dr. José Venzal por poner a disposición el laboratorio de parasitología en regional norte (Salto), por su tiempo, conocimientos, consejos y su buena voluntad.

A la Facultad de Veterinaria y a todos los docentes que nos aportaron conocimientos para nuestra formación.

A las funcionarias de Biblioteca por la disposición y colaboración en la búsqueda de materiales, en especial a Rosina y Ruth por su amabilidad y tiempo para la corrección de la bibliografía.

A los propietarios del establecimiento por el aporte de los animales, vivienda, conducción, etc.

Al Sr. Santiago Holzmann por su valiosa colaboración y buena voluntad en las actividades de campo.

Al Laboratorio Callier y Dispert por los productos brindados.

TABLA DE CONTENIDO

FAC

Página

PAGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS.....	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
• Epidemiología	9
• Anatomía parasitaria	11
• Ciclo biológico	12
• Especies parasitarias de nematodos gastrointestinales en ovinos	13
• Métodos de control de los nematodos gastrointestinales	14
• Escenario actual	14
• Control químico	15
• Bencimidazoles y Pro-Bencimidazoles	16
- Comportamiento farmacocinético	17
- Comportamiento farmacodinámico.....	19
- Dosis y toxicidad de los compuestos BZD.....	19
• Resistencia antihelmíntica	20
OBJETIVOS	22
HIPÓTESIS	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS.....	39

LISTA DE CUADROS Y TABLAS

Página

Tablas

Tabla 1: Generalidades de los antihelmínticos utilizados en el control de los parásitos internos	16
Tabla 2: Clasificación farmacológica de los Bencimidazoles	17
Tabla 3: Resultados de hpg promedios y rangos de los días 0 y 12 y %R.C.H. del experimento I	29
Tabla 4: Resultados de hpg promedios y rangos de los días 0 y 13 del experimento II, teniendo en cuenta la pre-selección con los diferentes antihelmínticos y las distintas dosis de ABZ y el %R.C.H.	30

Figuras

Figura 1: Porcentaje de explotaciones con ovinos como rubro de principal ingreso	8
Figura 2: Impacto potencial de los nematodos gastrointestinales en la recría ovina	10
Figura 3: Presentación estacional (aproximada) de los nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay	11
Figura 4: Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales	13
Figura 5: Fórmula estructural de Albendazol y Flubendazol	17
Figura 6: Esquema de trabajo de campo del experimento I	25
Figura 7: Esquema de trabajo de campo del experimento I y II	26
Figura 8: Porcentaje de nematodos gastrointestinales presentes en el cultivo de larvas del día 12 del experimento I	29
Figura 9: Porcentaje de nematodos gastrointestinales presentes en el cultivo de larvas del día 13 del experimento II	30
Figura 10: Evolución cronológica de valores de huevos por gramo del grupo evolución que involucra ambos experimentos	31

RESUMEN

Los nematodos gastrointestinales son unas de las principales causas de pérdidas económicas en producción animal. Los bencimidazoles (BZD) en rumiantes constituyen uno de los principales grupos antihelmínticos disponibles en la actualidad. Consecuentemente, la oferta de diferentes BZD ocupa un lugar preponderante en el contexto del control antihelmíntico en producción ovina. La falta de integración entre manejo animal, tratamiento y el incorrecto uso de los fármacos antihelmínticos, debido al desconocimiento de sus propiedades farmacológicas y de los factores que alteran las mismas, son elementos determinantes del fallo del control antiparasitario en poblaciones resistentes en condiciones de producción. Los objetivos de la presente tesis fueron: a) caracterizar el efecto del ayuno y el tipo de Bencimidazol (Albendazol (ABZ) y Flubendazol (FLBZ)) en la eficacia clínica frente a nematodos gastrointestinales en ovinos, b) comparar la eficacia clínica de diferentes dosis de ABZ en ovinos parasitados naturalmente con nematodos gastrointestinales resistentes a BZD. Se realizaron dos experimentos, con una población de 118 ovinos raza Corriedale parasitados naturalmente con nematodos gastrointestinales, los cuales fueron mantenidos en condiciones naturales de pastoreo e infestación. En el experimento I se evaluó la eficacia clínica y el efecto del ayuno previo (15hs) a la dosificación con ABZ y FLBZ. Para el experimento II, a los animales que mantuvieron niveles elevados de parasitosis luego de aplicado el tratamiento del experimento I, se evaluó el incremento de la dosis de ABZ (5, 15 y 30 mg/kg) en la eficacia clínica. La eficacia clínica de los tratamientos en ambos experimentos, fue evaluada mediante la reducción en el conteo de huevos por gramo (%R.C.H) en los grupos tratados versus el control. De forma complementaria, se realizó el cultivo de larvas por grupo, para identificar los principales géneros presentes. No se encontró diferencias en la eficacia clínica con la implementación del ayuno y la utilización de BZD de mayor potencia antihelmíntica (FLBZ). Pero si hubo diferencias significativas mostrando una correlación en el incremento en los niveles de %R.C.H con el incremento en los niveles de dosis de ABZ, frente a una población resistente a las dosis establecidas originalmente.

SUMMARY

One of the major causes of economical losses in animal production are the gastrointestinal nematodes. The main anthelmintic group currently available in ruminants is the Benzimidazole (BZD). Consequently, the supply of different BZD looms large in the context of controlling anthelmintic in sheep production. The key factors in the failure of parasite control in the resistant population under production conditions are the lack of integration between animal handling, treatment and improper use of anthelmintic drugs, due to ignorance of its pharmacological properties and factors altering them. The objectives of this thesis are: a) characterize the effect of fasting and type of Benzimidazole (Albendazole (ABZ) and Flubendazole (FLBZ)) in the clinical efficacy against gastrointestinal nematodes in sheep, b) compare the clinical efficacy of different doses of ABZ in naturally parasitized with BZD resistant gastrointestinal nematodes. There will be two experiments, with a population of 118 Corriedale sheep naturally parasitized with gastrointestinal nematodes, kept in natural conditions of grazing and infestation. Experiment I will evaluate the clinic efficacy and the effect of prior fasting (15 hrs.) to ABZ and FLBZ dosage. Experiment II, will evaluate the clinical efficacy of an increment in ABZ doses (5, 15 and 30 mg/kg), in animals treated in experiment I, but still remain with a high level of parasitosis. The clinical efficacy in treatments of both experiments will be evaluated by the fecal egg count reduction test (FECR) in treated group versus control group. As a complementary test, there will be a larval culture per group, to identify major genera present. There was no difference in clinical efficacy with fast implementation and use of more powerful BZD anthelmintic (FLBZ). Noticeable differences were observed showing a correlation between increased levels of FECR with increasing ABZ dose levels, on a population resistant to originally established doses.

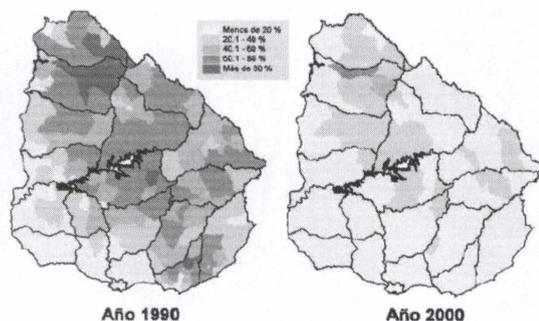
INTRODUCCIÓN

Producción ovina:

Uruguay posee uno de los mayores rebaños ovinos de América Latina cuyos orígenes básicos se remontan al siglo XIX. La producción ovina se realiza a cielo abierto sobre pasturas naturales, con las máximas garantías en cuanto a salud y bienestar animal (S.U.L). La producción ha estado orientada fundamentalmente hacia la producción de lana, carne y pieles, las cuales han alcanzado valores de especial significación para la dinamización de toda la economía, donde un alto porcentaje de estas producciones tienen como principal destino la exportación, registrándose en el año 2011 un ingreso por exportación de 400 millones de dólares americanos (US\$ 300 millones en lana y cueros y US\$ 100 millones por concepto de carne ovina) (Antúnez, 2012). Las principales razas ovinas de acuerdo al número de ejemplares que existen en el país son: Corriedale, Merino Australiano, Ideal, Merilin, Romney Marsh, cohabitan otras, en menor proporción, que son utilizadas fundamentalmente en cruzamientos para producción de carne. Es así que encontramos: Texel, Ile de France, Hampshire Down, Southdown, Suffolk, Poll Dorset, Doonhe Merino (S.U.L).

El mayor stock ovino en la historia de nuestro país se alcanzó en la década de los 90' siendo aproximadamente 25.611.000 números de cabezas (impulsados por la demanda y buenos precios de la fibra lana), a partir de este momento el stock hizo un punto de inflexión alcanzando valores de 7.471.316 en el año 2011 (MGAP - DI.CO.SE., 2011).

Las mayores explotaciones del rubro ovino en el Uruguay se encuentran en los departamentos de Artigas, Salto, Paysandú, Tacuarembó y Durazno, las mismas se encuentran mayoritariamente sobre basalto como se indica en la Figura 1.



Fuente: Censos Censales Agropecuarios 1990 y 2000, MGAP - DIEA.

Figura 1: Porcentaje de explotaciones con ovinos como rubro de principal ingreso
(Fuente: MGAP, DIEA, 2010).

Enfermedad Parasitaria y su Control:

Las parasitosis son enfermedades de verdadera importancia en el ser humano y en los animales domésticos que pueden originar sintomatología muy variada, según la gravedad, desde la pérdida del apetito hasta la muerte del individuo parasitado. Además, las parasitosis son unas de las principales causas de pérdidas económicas en producción animal en todo el mundo. Consecuentemente, el mercado de fármacos antihelmínticos ha crecido enormemente desde la década de los setenta,

ocupando actualmente un lugar de notable importancia económica en el contexto de la industria farmacéutica veterinaria (Botana y col., 2002).

La falta de integración entre manejo animal, tratamiento y el incorrecto uso de los fármacos antihelmínticos, debido al desconocimiento de sus propiedades farmacológicas y de los factores que alteran las mismas, son elementos determinantes del fallo del control antiparasitario en condiciones de producción (Botana y col., 2002). Estudios previos realizados por S.U.L y DILAVE, ya indicaron que el impacto potencial de los nematodos gastrointestinales (GI) en la recría ovina es de 50% de mortandad, 23,6% en la pérdida de peso vivo, 29,3% en el peso de vellón sucio, siendo el largo de mecha afectado en un 10,9% y el diámetro en un 6,3% (Castells, 1990). Justificando de este modo, implementar el Control integrado de parásitos (CIP), el cual sugiere un uso racional de drogas, disminuyendo su frecuencia de uso y la integración con otras medidas de control. Contrariamente, en la actualidad el método más utilizado continua siendo el control químico (Bonino, 2002). Siendo de nuestro interés contribuir en este conocimiento a través del estudio de la potencia y dosis de los antihelmínticos Bencimidazoles.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Epidemiología

El conocimiento de la dinámica del parasitismo es fundamental para proponer estrategias de control. Para esto se debe determinar la presencia, abundancia, distribución espacial (regional o dentro de un determinado lugar) y temporal (estacionalidad) de las principales especies. Estos aspectos están influenciados por cuatro grupos de factores:

- Dependientes de los parásitos: los parásitos de ciclo directo sobreviven a dos ambientes durante su ciclo vital: a) medio externo, donde evolucionan las formas infectivas, expuestas a condiciones climáticas variables, y b) el medio interno, dado por el hospedador, en el que enfrentan la respuesta inmune, la competencia entre especies parasitarias y los tratamientos farmacológicos. Los factores de adaptación son genéticos, predeterminados en cada especie o en cada cepa y esto determina su presencia en distintos ambientes.
- Dependientes del ambiente: el ambiente condiciona la abundancia, la estacionalidad y es fundamental para determinar el nivel de riesgo parasitario para las poblaciones de hospedadores.
- Dependientes de los hospedadores: los hospedadores condicionan por su nivel de susceptibilidad el desarrollo de las poblaciones parasitarias. La capacidad de respuesta inmune evoluciona con la edad y las experiencias de parasitismo, es así que los individuos adultos alcanzan un nivel de resistencia moderado. Los niveles de susceptibilidad individual varían genéticamente entre individuos de igual categoría y a los fines prácticos se estudian desde dos puntos de vista: la *tolerancia o resiliencia*, que es la capacidad de algunos hospedadores de albergar gran cantidad de parásitos sin sufrir sus efectos en la producción o la salud, y la *resistencia*, que es la aptitud de algunos hospedadores para interrumpir total o parcialmente el ciclo y la reproducción de las poblaciones parásitas a que es expuesto. Está demostrado en poblaciones no seleccionadas que el 25% de los animales pueden generar más del 75% de la

contaminación, esto justificaría la segregación de los individuos susceptibles (Olaechea, 2005).

- Dependientes del manejo: el manejo de la majada a través de tratamientos antihelmínticos, los cambios de potrero y los niveles de alimentación a que están sometidos los animales contribuyen a determinar las tasas de infección y su efecto sobre la producción. La variación en la susceptibilidad de los ovinos expuestos y el pastoreo simultaneo o alternado con especies no susceptibles, afectan la dinámica y diversidad natural de las poblaciones. Las cargas elevadas en sistemas intensivos, aún con niveles iniciales bajos de eliminación de huevos, generan altas tasas de contaminación que son desencadenantes de pérdidas productivas (Olaechea, 2005).

En la Figura 2 se cuantifican las pérdidas productivas de una dosificación supresiva y otra sin dosificar (Castells, 2004).

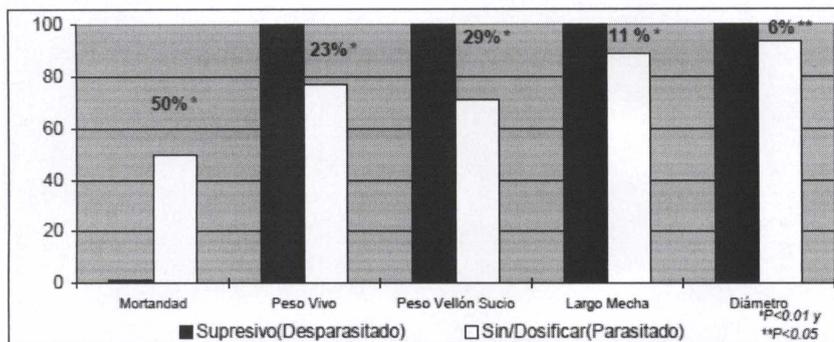


Figura 2: Impacto potencial de los nematodos gastrointestinales en la recría ovina. (Fuente: Castells, 2004).

Los diferentes géneros de nematodos de los ovinos en Uruguay, aparecen con diferente frecuencia a lo largo del año, dependiendo fundamentalmente de las condiciones climáticas. De este modo *Haemonchus contortus* por ser de clima más bien cálido aparece principalmente en primavera y otoño, en el verano lo hace en proporciones importantes si se dan condiciones elevadas de humedad y en el invierno disminuye su aparición, salvo cuando se dan condiciones cálidas (veranillos). En caso del *Trichostrongylus colubriformis* es diferente (por ser de clima un poco más frío), por lo que es de otoño, invierno (fundamentalmente) y primavera. En verano en general las poblaciones de *T. colubriformis* son bajas. *Ostertagia* spp. se presenta fundamentalmente en invierno, mientras que *Oesophagostomum* spp. está presente todo el año y *Cooperia* spp. entre octubre y noviembre. De todas maneras esta presentación estacional (como se indica en la Figura 3) es solo orientativa ya que una de las características más salientes del clima en Uruguay es su irregularidad (Castells, 2004).

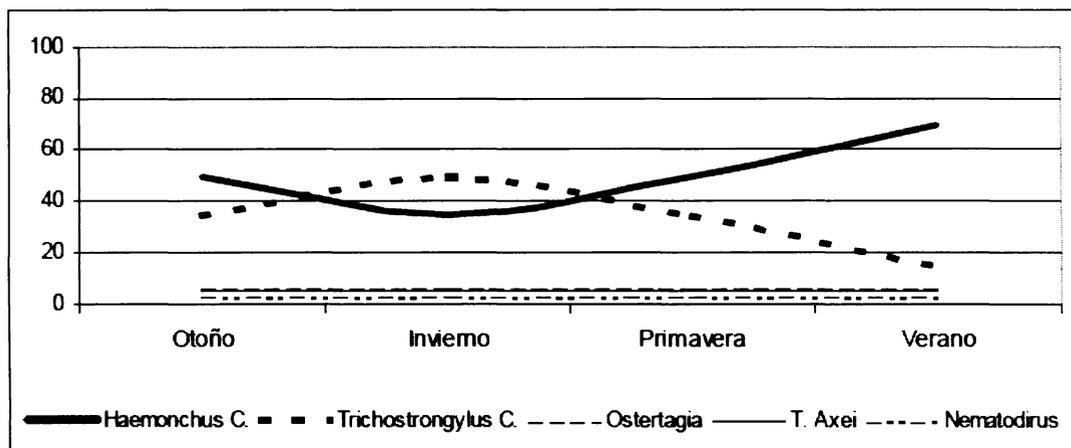


Figura 3: Presentación estacional (aproximada) de los nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay. (Fuente: Nari y col., 1986)

La temperatura y la humedad influyen en la supervivencia y velocidad del desarrollo de huevo a larva 3 (L3), variando de 8 a más de 60 días. Un desarrollo rápido y altas tasas de supervivencia, ocurren durante períodos de climas cálidos (más de 10 °C) y húmedos. El frío, calor extremo y seco bajan la tasa de supervivencia de las larvas (Mederos, 2002).

La materia fecal es la principal protección de las formas de vida libre, ofreciéndoles las condiciones de humedad y temperatura para su desarrollo inicial y su posterior supervivencia. Las excretas de los lanares en forma de grano ofrecen en comparación con las de los bovinos, poca protección a los estadios de vida libre (Suárez y col., 2007). Las larvas infestantes pueden desplazarse vertical u horizontalmente, siendo la lluvia el principal factor de dispersión de las mismas desde la materia fecal a la pastura. De este modo las larvas infestantes se presentan accesibles al ovino que pasta (Suarez y col., 2007).

Resulta oportuno remarcar que los ovinos son altamente sensibles a las parasitosis durante toda la vida, en especial las categorías jóvenes (corderos y borregos) y las hembras próximas al parto, esta última categoría es la responsable de contaminar las pasturas con parásitos que luego actuarán sobre sus propias crías (Fiel, 2005).

Anatomía parasitaria

Los nematodos son parásitos redondos, fusiformes, no segmentados, con cutículas complejas y alargadas. Poseen aparato digestivo completo, en el extremo anterior está la boca, no muy atrás de ésta se encuentra la pequeña apertura de los órganos que se consideran excretorios. La boca conduce a una cavidad bucal que es típicamente cilíndrica, cubierta por una cutícula engrosada para formar una estructura llamada cápsula bucal. En algunos casos la capsula bucal está provista de estiletes agudos, que son empleados para penetrar y desgarrar tejidos del huésped. De la cavidad bucal, el tubo digestivo se continua con el esófago que algunas veces de denomina faringe, generalmente es cilíndrico y de paredes musculosas, actúa como una bomba muscular succionando líquidos del huésped. El esófago se continúa con el intestino, lo cual constituye el resto del tubo digestivo. Su sección final se llama recto, culminando en su abertura externa, el ano. Si el parásito

tiene dientes y esófago musculoso, lo más probable es que sea hematófago (ej: *Haemonchus* spp.) (Lapage, 1971).

El orden Strongyloidea en cuanto al aparato reproductor, son dioicos o sea que existen parásitos hembras y machos. En el gusano hembra el poro genital femenino se localiza generalmente en la región anterior del cuerpo. Posee en la salida de la vulva una estructura llamada lengüeta vulvar, esto es un elemento morfológico que hace a la diferenciación del individuo de las diferentes especies (Lapage, 1971). Los órganos genitales masculinos se abren dentro del extremo posterior del tubo digestivo, de manera que el ano se une con la abertura genital masculina para formar una cloaca. Posee una expansión de la cutícula en forma de sombrilla alrededor del extremo posterior, llamado bursa copulatoria o bolsa caudal (sirve para sujetar la hembra) contenida por costillas, provista de estructuras cuticulares quitinosas llamadas espículas que abren la vulva de la hembra, ayudando a dirigir los espermatozoides hacia su interior. También puede haber en la pared dorsal de la cloaca un engrosamiento quitinoso cuticular llamado gubernaculum que sirve para guiar a las espículas. En la pared ventral de la cloaca posee el telamón (quitinoso) el cual sirve para clasificar las especies (Lapage, 1971).

Ciclo biológico

Los nematodos hembras adultas ponen sus huevos los cuales son liberados en las pasturas a través de las materias fecales de los ovinos infectados. Una vez en las pasturas, los huevos eclosionan y se desarrollan al estadio larvario a través de dos etapas (L1 y L2). Durante este período las larvas están en estadio libre alimentándose de bacterias y otros microorganismos (Mederos, 2002).

El tercer estadio infestante (L3), retiene la cutícula del segundo estadio. Esta L3 no se alimenta y depende de sus reservas almacenadas. Esta fase de vida libre es común en líneas generales, para todos los géneros parasitarios, con alguna excepción como *Nematodirus* spp, que alcanza el estadio de L3 en el interior del huevo (Fiel y Steffan, 1994).

Cuando la larva infestante es ingerida por un hospedador adecuado, pierde la cutícula del segundo estadio y comienza a desarrollarse a adulto dentro del aparato digestivo del hospedador (Mederos, 2002). Dependiendo de la localización del parásito, los estrogilidos GI que habitan en el abomaso se liberan de su cubierta en el rumen, los de intestino delgado en el abomaso, mientras que aquellos que se localizan en el intestino grueso pierden su vaina en el intestino delgado (Lapage, 1971).

La mayoría de las especies de nematodos tardan 3 semanas en desarrollarse en adultos y comenzar la postura de huevos. Las larvas infestantes ingeridas por un animal durante un período de condiciones climáticas adversas, pueden quedar temporalmente en estado de refugio en la mucosa del cuajo o intestino (hipobiosis) (Mederos, 2002). En la Figura 4 se muestra en forma esquemática el ciclo biológico de los nematodos GI.

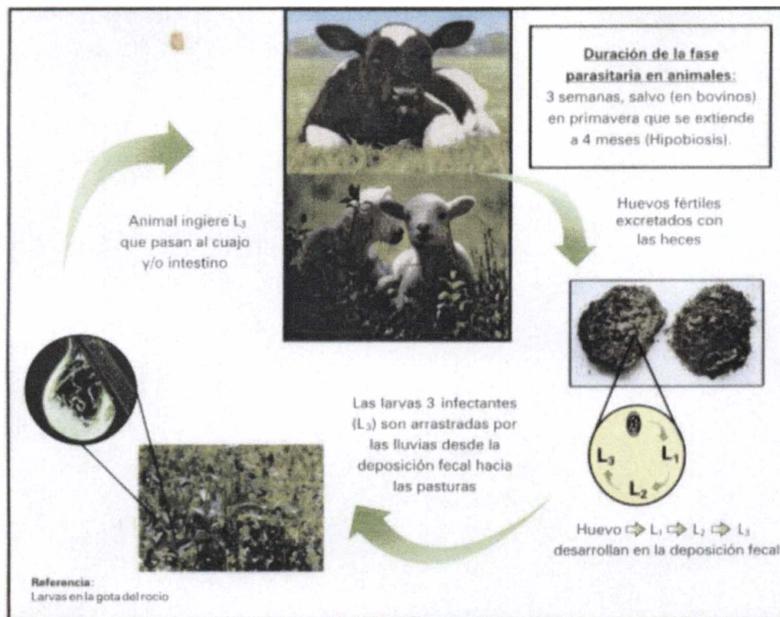


Figura 4: Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales

(Fuente: Fiel, 2005).

Especies parasitarias de nematodos gastrointestinales en los ovinos.

Se sabe que las especies de nematodos GI que se desarrollan en ovinos son principalmente *H. contortus* (43%), *T. colubriformis* (26%), *T. axei* (12%), *Nematodirus* spp. (11%) y *Ostertagia* spp. y otros (8%) (Castells, 2004).

Haemonchus contortus es un nematodo que se ubica en el abomaso (cuajo), los machos adultos miden entre 10 a 20 mm mientras que las hembras son más grandes 18 a 30 mm de longitud. Son parásitos hematófagos ya que poseen una lanceta dorsal que le permite erosionar la mucosa del abomaso. El poder biótico es muy elevado siendo de 5000 a 10000 huevos/día. Tiene un período prepatente (período desde cuando ingresa L₃ hasta que comienza la emisión de huevos) de 14 días (Lapage, 1971).

Trichostrongylus colubriformis, parásito del intestino delgado. El macho mide entre 4 a 4,5 mm y la hembra entre 5 y 7 mm de longitud. Se alimentan de tejido intestinal. Tienen un potencial biótico moderado, entre 100 y 200 huevos/día. Presenta un período prepatente de 21 días (Lapage, 1971).

Ostertagia circumcincta se encuentra ubicado en el abomaso. El macho tiene entre 7,5 y 8,5 mm y la hembra de 9,8 a 12,2 mm de largo. La enfermedad causada por este parásito se denomina ostertagiasis, la cual no es muy común en ovinos (Lapage, 1971).

Cooperia curticei se encuentra en el intestino delgado. Los machos miden 4,5 a 5,4 mm y la hembra 5,8 a 6,2 mm de longitud. Esta especie aumenta su número en la primavera. *Cooperia* spp. succiona sangre del intestino delgado (Lapage, 1971).

Nematodirus spathiger y *N. filicollis* se encuentran en el intestino delgado de los ovinos. Los machos tienen una longitud de 10 a 15 mm y las hembras de 15 a 23 mm. Las larvas 1, 2 y 3 mudan su epidermis dentro de los huevos en vez de hacerlo en los pastizales (Lapage, 1971).

Oesophagostomum columbianum y *O. venulosum*, son parásitos del colon de los ovinos. Los machos tienen de 12 a 16,5 mm y la hembra de 14 a 21,5 mm de longitud. El huésped a la reinfección genera inmunidad frente a este parásito, de tal forma que los envuelve en fibrina formando los llamados nódulos oesophagostominos en el intestino delgado (donde mudan de L3 a L4) (Lapage, 1971).

Métodos de control de los nematodos gastrointestinales

Si bien existen diversas formas de clasificar y estudiar las medidas de control de los nematodos GI se ha optado por dividirlos en 5 grupos (Castells, 2002):

- I. Control químico: o sea el uso de productos químicos (uso de antihelmínticos), que a las dosis utilizadas, ejercen su efecto letal sobre las formas parasitarias y mínimos a nulos efectos sobre el huésped al cual ha sido destinado (ovino).
- II. Manejo antiparasitario: a través de la obtención y el uso de pasturas seguras; entendiendo por éstas aquellas que tienen niveles de contaminación/infestación bajos, permitiendo el pastoreo de animales sin riesgo inmediato de infección parasitaria.
- III. Control genético: a través de la selección de aquellos ovinos que son más resistentes a las parasitosis por nematodos GI.
- IV. Control inmunitario: a través de la utilización de vacunas que estimulando el sistema inmunitario permitan frenar el establecimiento y mantenimiento de poblaciones parásitas sobre el animal.
- V. Control biológico: o sea el uso fundamentalmente de organismos vivos (principalmente hongos), que controlan las formas parasitarias en diferentes etapas (fundamentalmente en los estadios libres).

Escenario actual

En el pasado el control de nematodos GI se realizaba con productos químicos como la Fenotiazina, Tetracloruro de Carbono, Sales de Cobre y Nicotina. En 1962 aparece el primer Bencimidazol (Thiabendazol), combinando, amplio espectro, elevada eficacia, margen de seguridad y bajo costo. En la década del 70' contamos con un segundo grupo de acción diferente, los Levamisoles, que presentan similares características de espectro, eficacia, seguridad y precio. En los 80' aparece el tercer grupo de amplio espectro, las Lactonas Macroclínicas, representadas al principio por la Ivermectina, aumentando el espectro a ciertos ectoparásitos (endectocida) (Castells, 2002).

Con tres grupos de amplio espectro, muchas moléculas dentro de cada grupo y varios compuestos de espectro reducido, con eficacia y persistencia en el control de *H. contortus*, el combate a nematodos por la vía química, parecía ser fácil. Sin

embargo, los nematodos pudieron reaccionar y bloquear la acción de los antihelmínticos, a través de lo que se conoce como “resistencia antihelmíntica” (Castells, 2002). La situación de la resistencia antihelmíntica en el Uruguay es preocupante, ya que en 1994 el 92,5% de los establecimientos ovejeros presentaban algún grado de ésta. En estas explotaciones se encontró un 86% de resistencia a los Bencimidazoles, un 71% a los Levamisoles y un 1,2% a las Avermectinas. El principal nematodo involucrado en la resistencia fue *Trichostrongylus* spp. y en segundo lugar el *Haemonchus* spp. (Nari y col., 1996).

Esta situación en los últimos años, lejos de revertirse o detenerse, se agravó más aún y son muchos los reportes de *Haemonchus* spp. resistente a las Ivermectinas (Castells, 2002).

Estas constataciones determinan un cambio de enfoque en el control de nematodos donde los antihelmínticos siguen ocupando un lugar preponderante, pero otros métodos de control deben ser incorporados apuntando a lo que se denomina, Control Integrado de Parásitos (CIP) (Castells, 2002).

Control Químico

El control químico a base de drogas antihelmínticas es la medida más difundida. En Uruguay es muy difícil imaginar estrategias de control que no se basen en la utilización de antihelmínticos. Esto se debe a que son relativamente económicos y de resultados rápidamente apreciables (Bonino, 2002).

En la última década contamos con tres grandes grupos de antihelmínticos de acuerdo al espectro de acción: de amplio espectro, Bencimidazoles (Albendazol, Fenbendazol y otros), Imidazotiazoles (Levamisol) y Lactonas Macrocíclicas (Ivermectinas, Abamectina, Doramectina, Moxidectin); de espectro medio un Fosforado (Naftalophos); de espectro reducido, dos grupos Salicilanilidas y Fenoles Sustituídos (Closantel, Rafoxanide, Nitroxinil) y un Fosforado (Triclorfón) (Castells, 2002). Agregándose actualmente los derivados amino-acetonitrilos (Monepantel) como un antiparasitario de amplio espectro. Los principales principios activos de cada familia con su respectivo espectro de acción se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Generalidades de los antihelmínticos utilizados en el control de parásitos internos.

Familia	Principios activos	Mecanismo de acción	Espectro de acción
Avermectinas	Ivermectina Abamectina Doramectina Eprinomectina	Apertura de canales de Cl ⁻ Glutamato. Hiperpolarización celular provocando parálisis flácida	Amplio espectro
Milbemicinas	Moxidectina	Similar a Avermectinas	Amplio espectro
Imidazotiazoles	Levamisol	Parálisis espástica del parásito por acción colinérgica en receptores nicotínicos	Amplio espectro
Organofosforados	Triclorfón Naftalofos.	Inhibe la acetilcolinesterasa, causando parálisis espástica	Espectro medio
Derivado amino-acetonitrilo	Monepantel	Interfiere con los receptores MPTL-1 del sistema nervioso causando parálisis espástica	Amplio espectro
Salicilanilidas	Closantel Rafoxanide Oxiclozanida	Desacoplante de la fosforilación oxidativa	Espectro reducido
Fenoles sustituidos	Nitroxinil	Desacoplante de la fosforilación oxidativa	Espectro reducido

Bencimidazoles y Pro- Bencimidazoles

Los Bencimidazoles (BZD) se introdujeron al principio de los años 60' del siglo pasado. Los BZD son drogas que han alcanzado notable trascendencia a lo largo de muchos años, en razón de sus características de amplio espectro, baja toxicidad y bajo costo (Botana y col., 2002). Los primeros compuestos disponibles fueron el Tiabendazol, el Parbendazol, el Oxibendazol y el Mebendazol. Posteriormente, a finales de los años 70' del siglo pasado, se introdujeron BZD de amplio espectro más modernos como el Albendazol, el Fenbendazol, el Oxfendazol y el Ricobendazol (Junquera, 2012a). Los compuestos bencimidazólicos más importantes responden a la siguiente clasificación farmacológica (Tabla 2):

Tabla 2: Clasificación farmacológica de los Bencimidazoles.

Bencimidazoles tiazoles	Bencimidazoles metilcarbamatos	Bencimidazoles tioles halogenados	Probenzoimidazoles (pro-BZD)
Thiabendazol (TBZ) Cambendazol (CBZ)	Mebendazol (MBZ) Oxibendazol (OXB) Albendazol (ABZ) Albendazol sulfóxido (ABZSO) Flubendazol (FLBZ) Fenbendazol (FBZ) Oxfendazol (OFZ)	Triclabendazol (TCBZ)	Tiofanato (TFT) Febantel (FBT) Netobimina (NTB)

El Albendazol (ABZ) es el BZD metilcarbamatos más utilizado en la actualidad, siendo efectivo contra nematodos pulmonares y GI, tenias y trematodos hepáticos (Botana y col., 2002). Como alternativa terapéutica, surge el Flubendazol (FLBZ) p-fluorado análogo del Mebendazol, al que la halogenación le proporciona una mayor potencia relativa frente al ABZ, que a diferencia presenta una molécula de azufre en el carbono 5. En la Figura 5 se comparan las moléculas de ambos antiparasitarios.

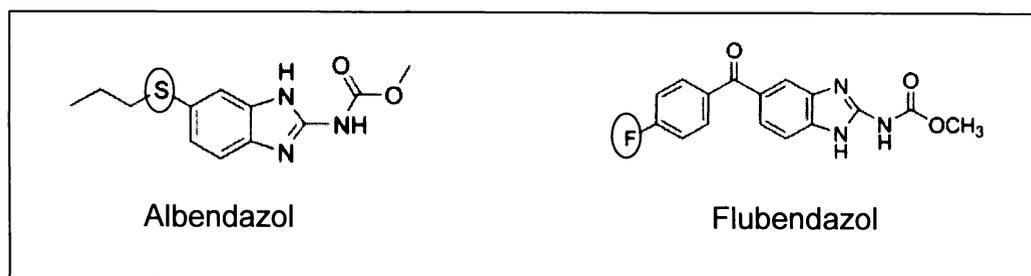


Figura 5: Fórmula estructural de Albendazol y Flubendazol.

Comportamiento farmacocinético

Los fármacos BZD poseen una hidrosolubilidad limitada, lo cual limita su administración a la vía oral (suspensiones, pastas, gránulos). Son sustancias cristalinas estables y con alto punto de fusión (223-304 °C), solubles en alcohol y disolventes no polares (Botana y col., 2002).

La absorción de sustancias administradas por esta vía (oral) depende del pH gastrointestinal, del pK_a del fármaco y del grado de ionización resultante. El gran volumen del rumen y la extensa permanencia del material alimenticio en el mismo aumenta el tiempo de permanencia, por lo tanto se puede decir que el rumen actúa como reservorio y prolonga el período de absorción de los compuestos BZD (Botana y col., 2002).

Con respecto a la distribución GI, la tasa de absorción, metabolismo y excreción de compuestos BZD varía entre las diferentes drogas del grupo; lenta y sostenida

absorción GI y prolongado reciclaje entre plasma y tracto digestivo, son factores relevantes para optimizar la eficacia antihelmíntica de los BZD (Botana y col., 2002). La eficacia de los BZD dependen de varios factores, entre los que se encuentran el tamaño y calidad de las partículas que componen el principio activo, el vehículo, el ayuno, la dosis, las condiciones fisiológicas del animal y la forma de administración, lo que deberá ser tenido en cuenta en el momento de su administración (Steffan y col., 2002). La cantidad y composición de la dieta son factores que afectan el comportamiento y la eficacia de los antihelmínticos. En los animales ayunados, disminuye la tasa de pasaje del alimento a través del tracto GI, y por lo tanto aumenta el tiempo para la solubilización y absorción de los antihelmínticos (BZD), así como también las concentraciones plasmáticas de la droga (Křížová-Forstová y col., 2011). Estos autores demostraron que un ayuno de 24 horas previos a la dosificación con ABZ en ovinos llevó a un aumento significativo de todos los parámetros farmacocinéticos en animales ayunados en comparación con animales no ayunados (Křížová-Forstová y col., 2011).

Los más modernos BZD como el Albendazol, Fenbendazol y Oxfendazol son más lipofílicos que los compuestos más antiguos (Thiabendazol) y permanecen por más tiempo en la circulación sistémica. Por consecuencia estas drogas tienen un mayor tiempo para intercambio (reciclaje) entre plasma y tracto GI, lo cual es muy importante para alcanzar concentraciones adecuadas en el tracto digestivo y prolongar la exposición de los parásitos localizados en el mismo a niveles de droga que les son tóxicos (Botana y col., 2002).

Los compuestos BZD y sus metabolitos son intercambiados reversiblemente entre plasma y tracto digestivo, lo cual favorece la llegada de droga activa a parásitos localizados en la mucosa o lumen GI. Este mecanismo tiende a concentrar los metabolitos como por ejemplo: Albendazol sulfóxido en el tracto GI, lo cual es particularmente importante en el caso del abomaso, donde un pH más ácido que del fluido ruminal o intestinal, favorece un fenómeno de secuestro de droga muy importante, dicho secuestro abomasal, basado en un fenómeno de trampa iónica es relevante para el comportamiento farmacocinético y la eficacia antihelmíntica de estos compuestos (Botana y col., 2002).

El metabolismo de los BZD metilcarbamatos del tipo tioéteres, son catalizados por un sistema de oxidasas microsomales, las reacciones de biotransformación más importantes son la sulfoxidación y la hidroxilación (Botana y col., 2002). Los principales metabolitos encontrados en la sangre después de la administración de ABZ a ovejas son Albendazol sulfóxido (ABZSO) y Albendazol sulfona (ABZSO₂). En cuanto a la unión a la tubulina del parásito (su mecanismo de acción), el ABZ como droga madre es más potente que su sulfóxido metabolito (ABZSO), mientras que la sulfona (ABZSO₂) es un derivado inactivo (Álvarez y col., 2011). Estos metabolitos se distribuyen en el organismo y son concentrados en el tracto GI, principalmente en el abomaso. Además de la importancia del metabolismo hepático (en algunas especies), la metabolización a nivel GI es de gran trascendencia, ya que en los microsomas hepáticos de la especie ovina y bovina carecen de las enzimas encargadas de la sulforeducción. Este proceso consiste en la reducción de los metabolitos sulfóxidos a sus respectivos tioéteres por acción de la flora bacteriana del tracto GI (Botana y col., 2002). La eliminación del ABZSO es mayoritariamente por vía urinaria.

Comportamiento farmacodinámico

Actúan provocando alteración en la estructura microtubular, se unen a la proteína β tubulina del nematodo, favoreciendo la despolimerización y alterando la estructura de los microtubulos, éstos están involucrados en diversos procesos vitales para la función celular, tales como el transporte de nutrientes, división celular mitótica, excreción de desechos metabólicos y estructura celular. Esa selectiva unión a la proteína tubulina del parásito desencadena una disrupción del equilibrio dinámico tubulina-microtubulos, lo cual altera el funcionamiento celular (Botana y col., 2002).

También de manera secundaria podrían modificar la actividad de enzimas como fumarato-reductasa y provocar interferencia con el metabolismo energético en el transporte de glucosa hacia el citosol del parásito (Lanusse, 1994).

Dosis y toxicidad de los compuestos BZD

La dosis recomendada de Albendazol es 3.8mg/kg. Álvarez y col., (2011) recientemente demostraron que en ovinos infectados artificialmente con *H. contortus* resistentes a BZD, frente a un incremento de la exposición a la droga (x3 y x10 veces), se correlacionó con un incremento en la eficacia parasitológica. Sin embargo, estos datos no han sido validados en situaciones de infestación natural con nematodos resistentes en nuestro país.

El alto margen de seguridad de los BZD se relaciona con la baja solubilidad que presentan en los fluidos GI y como consecuencia poseen baja absorción que les impide alcanzar elevadas concentraciones en plasma como para provocar signos de toxicidad (Botana y col., 2002). De acuerdo a las advertencias de los productos *Bovex@25%Co* y *Valbazen@25%Co* a una dosis única de 150 mg/kg en bovinos presentan signos de intoxicación (anorexia, letargia, pérdida de peso y ligera incoordinación del tren posterior) mientras que a una dosis de 300 mg/kg causaron la muerte de varios animales; en ovinos la dosis letal es de 100 mg/kg (26 veces la dosis recomendada). Se ha demostrado que el ABZ administrado en los primeros estadios de la preñez en dosis cuatro veces por encima de la dosis recomendada, ha producido efectos teratogénicos. El período de susceptibilidad embrionaria coincide con el período de desarrollo de los miembros (aproximadamente a los 20 días de preñez) y se expresa con mal formaciones, como deformidades de los miembros e hiperflexión de la articulación carpiana. Esta embriotoxicidad está relacionado con los efectos de disrupción en la dinámica microtúbulo-tubulina. Los ovinos son más sensibles a este efecto, el cual está relacionado con diferencias en el comportamiento farmacocinético y el metabolismo de esta especie (Botana y col., 2002).

Resistencia antihelmíntica

La resistencia antihelmíntica es definida como un aumento significativo de los individuos de una población de nematodos capaces de tolerar dosis de droga(s) que han probado ser letales para la mayoría de individuos de la misma especie (Nari, 1987).

Dentro de esta definición general existen grados o matices que a veces no son fácilmente detectables en condiciones de campo (Nari, 1987) como ser:

- Resistencia colateral: existe cuando la resistencia a un antihelmíntico es el resultado de la selección de otra droga con un modo de acción similar.
- Resistencia cruzada: se produce cuando la resistencia es el resultado de la selección de otra droga con un modo de acción diferente.
- Resistencia múltiple: se presenta en dos o más grupos de antihelmínticos, ya sea como consecuencia de la selección de individuos dentro de un mismo grupo de drogas o como resultado de la resistencia colateral.
- Reversión de resistencia: consiste en la disminución de los individuos resistentes dentro de una población a la que se ha evitado presionar con el agente causal de su selección.
- Selección contraria: es un tipo de reversión en la cual se refuerza e induce la selección a través de una droga con un modo de acción diferente a la que indujo resistencia.

La resistencia antihelmíntica ha determinado un nuevo escenario en el control de nematodos GI del ovino, donde los antihelmínticos deberán ser utilizados criteriosamente (Castells, 2002).

En muchos casos la resistencia antihelmíntica, ha obligado a la utilización combinada de antihelmínticos, de forma de lograr alta eficacia y amplio espectro simultáneamente (Castells, 2002).

Si bien las dosificaciones tácticas dependen entre otras cosas de aspectos epidemiológicos, se mantiene el concepto de dosificaciones estratégicas, que en el caso de una majada de cría se realizan en la preencarnerada, parto, señalada y destete (Castells, 2002).

Por otro lado un elemento que ha surgido en el marco de una disminución en el uso de antihelmínticos a la totalidad de los animales de una población, es la dosificación individual, solo a los animales afectados. Este método es aplicado en Nueva Zelanda (Drench on Demand) y en Sudáfrica (FAMACHA[®]), con diferentes criterios de evaluación dependiente fundamentalmente del nematodo considerado (score de diarrea para *T. colubriformis* y coloración de la mucosa ocular para *H. contortus*). En Uruguay, los trabajos de investigación realizados sobre la técnica de FAMACHA[®], dieron resultados satisfactorios en términos de racionalización en el uso de las drogas, siendo una alternativa para ser usada en algunos casos puntuales, pero no en forma generalizada (Castells, 2002).

La heredabilidad de la resistencia es la característica más importante de este fenómeno; proceso en el cual la presión ejercida por la quimioterapia elimina selectivamente los nematodos 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. La resistencia puede ser intrínseca o adquirida. En la primera un parásito que es naturalmente insensible a una droga, debido a la ausencia de receptores o la imposibilidad del fármaco para entrar al sitio de acción de la misma, como ocurre en la resistencia de los trematodos y cestodos 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 (Márquez Lara, 2003).

Las principales modificaciones genéticas que operan en el proceso de la resistencia adquirida son (Márquez Lara, 2003):

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 grupo de drogas.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Estudiar la potencia y dosis de Bencimidazoles en el control antihelmíntico de nematodos gastrointestinales en ovinos.

Objetivos particulares:

1. Caracterizar el efecto del ayuno y el tipo de Bencimidazol (Albendazol (ABZ) y Flubendazol (FLBZ)) en la eficacia clínica frente a nematodos gastrointestinales en ovinos.
2. Comparar la eficacia clínica de diferentes dosis de ABZ en ovinos parasitados naturalmente con nematodos gastrointestinales resistentes a Bencimidazoles.

HIPÓTESIS

- 1.** La aplicación del ayuno y la dosificación con Flubendazol (FLBZ) incrementaría la eficacia clínica con respecto al Albendazol (ABZ).
- 2.** El aumento de la dosis de ABZ incrementaría la eficacia clínica frente a nematodos gastrointestinales resistentes a la dosis indicada para uso de Bencimidazoles (ABZ y FLBZ).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área experimental y Laboratorio:

En base a los antecedentes de dosificación (9 años de la última dosificación con BZD) y el nivel de resistencia antihelmíntica en la zona, el estudio experimental se realizó en el establecimiento Los Sauces Soc. Agrop. ubicado en el departamento de Paysandú, en el paraje Puntas del San Francisco, a 37 km al noreste de la ciudad de Paysandú. El mismo se realizó en verano-otoño, momento epidemiológico de mayor prevalencia de *H. contortus*.

Este trabajo experimental involucró la participación del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria Regional Norte (Salto), Laboratorio de Parasitología y Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Veterinaria (Montevideo), donde se realizaron el diseño experimental, análisis de muestras e interpretación de los resultados.

Animales Experimentales:

De una población de ovinos del establecimiento de la raza Corriedale, parasitados naturalmente con nematodos GI y mantenidos en condiciones naturales de pastoreo e infestación, se preseleccionaron 118 animales.

Los criterios de inclusión al experimento fueron por valores de huevos por gramo (hpg) (mayores a 120 y menores a 5000 hpg), peso (entre 20 y 45 kg de peso vivo) y categoría (borregas de 2-4 dientes por ser unas de las categorías más susceptibles a las parasitosis GI). Quedando así una totalidad de 84 borregas de 2-4 dientes con hpg promedio de 860 (rango de 120 - 2920) y un peso vivo promedio de 35 ± 5 kg. Mientras que los criterios de exclusión fueron aquellos ovinos que recibieron tratamiento antihelmíntico en los dos meses previos al ensayo y todos los que no cumplieron con los requisitos de inclusión. Las borregas que contabilizaron menos de 120 huevos por gramo fueron incluidas en un grupo que tomaremos como registro de la evolución cronológica (no fueron dosificadas en todo el período de esta tesis), de manera de apreciar el efecto del no tratamiento con cargas bajas de parásitos durante el ensayo, a este grupo lo llamaremos evolución (n=34).

a. Experimento I

- Diseño experimental:

Se evaluó la eficacia clínica y el efecto del ayuno previo (15hs) a las dosis indicadas comercialmente para uso de ABZ (3,8 %, Albetil, Lab. Dispert, Uruguay) y FLBZ (10%, Producto en desarrollo, Lab. Callier, Uruguay). De acuerdo al inicio del ensayo (hpg día 0), los animales se adjudicaron en grupos y subgrupos, en donde se aplicó como criterio de tratamiento a los grupos al ayuno (ayuno 15hs y no ayuno) y como criterio de tratamiento a los subgrupos, la dosificación farmacológica. Adjudicándose el tratamiento farmacológico en: Grupo control (los animales no recibieron tratamiento antihelmíntico), Grupo ABZ (los animales fueron tratados con una formulación de ABZ (3,8%) por vía oral, a la dosis de 3,8 mg/kg), Grupo FLBZ (los animales fueron tratados con una formulación de FLBZ por vía oral, a la dosis de 10 mg/kg). La asignación de los tratamientos en los grupos se realizó mediante un

diseño en bloques completamente aleatorio y en los subgrupos mediante el azar (Diseño Split-Plot).

- Muestreo experimental:

El día -4 se indentificó en forma individual a las borregas, dicha identificación se realizó en la región del anca (grupa) utilizando pintura en aerosol con números correlativos del 1 al 118. También se extrajo muestras de materia fecal, para su posterior procesamiento en el laboratorio.

El día -3 se realizó el procesamiento de las muestras en el laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria Regional Norte.

El día -1 se designó cada borrega a su correspondiente grupo y subgrupo, para posteriormente ser encerradas en los Bretes sin oferta forrajera a las borregas del grupo ayuno (n=42) (15 horas de ayuno).

El día 0 se registró el peso individual (balanza para 100 kg máx. con sensibilidad de 0,2 kg), en función del peso se dosificó con ABZ y FLBZ vía oral, aplicada con jeringa de 5 ml con precisión de 0,1 ml, luego se registraron estado corporal (EC) y FAMACHA.

El día 12 se realizó la técnica FAMACHA y extracción de muestras individuales de materia fecal. Las muestras fueron procesadas el día siguiente a su extracción para realizar el conteo de huevo por gramo y cultivo de larvas. En la Figura 6 se esquematiza el trabajo de campo.

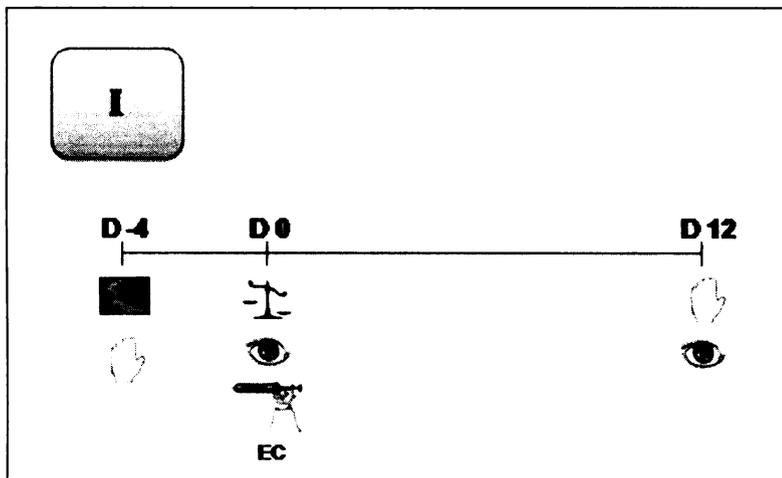


Figura 6: Esquema de trabajo de campo del experimento I

■ = Identificación; = Extracción de materia fecal; = FAMACHA;
 = Pesaje; EC = Estado corporal; = Dosificación.

b. Experimento II:

- Diseño experimental:

En este experimento, los criterios de inclusión fueron por valores de hpg, mayores a 300 y menores a 3000, quedando una población de 48 animales con hpg promedio

de 1023 (rango 320 – 2640), demostrando un nivel elevado y homogéneo de parasitosis. Dichos animales provenían del experimento I (parásitos resistentes) y se evaluó la respuesta a un incremento de la dosis de ABZ (5, 15 y 30 mg/kg) mediante el porcentaje de reducción en el conteo de huevos (%R.C.H.).

Para el diseño experimental se tomó como primer criterio el tratamiento previo recibido (ABZ, FLBZ y control) y como segundo criterio el nivel de dosis administrada: Grupo control (no recibió tratamiento antihelmíntico), Grupo 5, Grupo 15 y Grupo 30 (los animales fueron tratados con una formulación de ABZ (3,8%) por vía oral, a la dosis de 5, 15 y 30 mg/kg, respectivamente). La asignación de los tratamientos se realizó de igual forma que para el experimento I. El grupo evolución se sigue manteniendo. En la Figura 7 se puede apreciar la continuidad entre los experimentos.

- Muestreo experimental:

El día 0 se realizó la formación de los grupos y se dosificó.

El día 13 se extrajo muestras individuales de materia fecal, las cuales fueron procesadas al día siguiente de su extracción, además de realizar la técnica FAMACHA y EC.

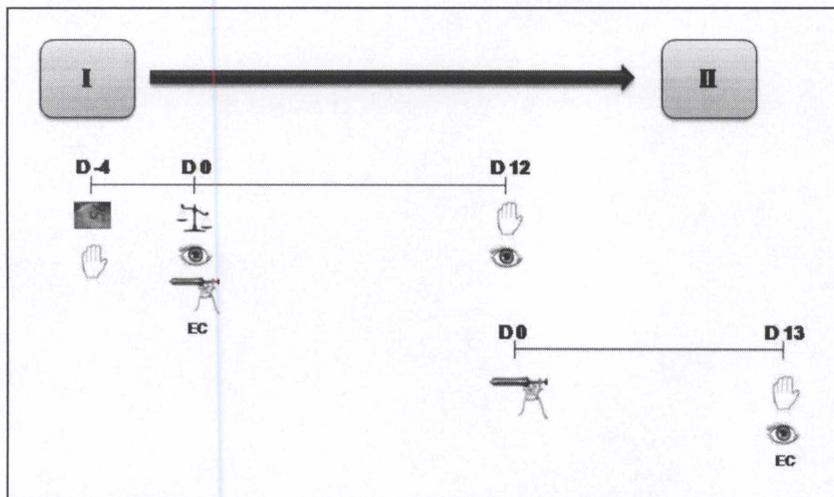


Figura 7: Esquema de trabajo de campo del experimento I y II

= Identificación;
 = Extracción de materia fecal;
 = FAMACHA;
 = Pesaje;
 EC = Estado corporal;
 = Dosificación.

Análisis de muestras:

Estudios parasitológicos:

- Recuento de huevos por gramo en materia fecal:

La extracción de materia fecal se realizó desde recto en forma manual para su posterior colocación en bolsas de polietileno teniendo la precaución de que estuvieran cerradas con la menor cantidad de aire, bien identificadas con el número del animal y refrigeradas hasta su procesamiento.

Se utilizó la técnica cuantitativa McMaster modificada. Para esta prueba se utiliza una solución saturada de Cloruro de sodio (densidad 1,20) lo que produce la flotación de los huevos de la mayoría de los géneros parasitarios GI, permitiendo así su recuento en cámaras con una sensibilidad de 40 huevos por gramo (hpg) utilizada en este estudio.

- **Cultivo de larvas**

Para cada grupo se realizó un coprocultivo extrayendo 10g de materia fecal (obtenido de un "pool" de materia fecal de cada grupo) mediante la técnica de Roberts- O` Sullivan brindando las condiciones necesarias de temperatura (27 °C), oxígeno y humedad (75%) para el desarrollo de huevo a L3 permitiendo conocer así los géneros parasitarios predominantes. Luego de 8 días se recuperaron las larvas para su posterior identificación (observadas en forma directa al microscopio) empleando las claves de Niec (1968), la misma se realizó en el laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria (Montevideo).

Análisis clínico:

Además del estudio parasitario se realizaron las técnicas: FAMACHA y Estado corporal.

- **FAMACHA:**

El método FAMACHA se basa en la comparación del color de la conjuntiva ocular con una escala de 5 colores (1 al 5), los cuales se correlacionan con los diferentes grados de anemia visualizados a través de la mucosa ocular. El método presupone que la anemia es causada por la infección de *Haemonchus* spp. El objetivo principal de FAMACHA es controlar *H. contortus* en ovinos, dosificando solamente aquellos animales que en base a la inspección clínica de la mucosa ocular muestren grados de anemia considerables (Salles, 2002). En nuestro ensayo experimental los animales presentaron en la escala de FAMACHA un valor de 3 (rango entre 1 y 4).

- **Estado corporal:**

La técnica de estimación del estado corporal se realiza por una simple palpación en la zona lumbar del ovino en pie, detectándose el grado de recubrimiento de grasa subcutánea de los huesos de la zona a través de la piel. Mediante esta técnica lo que se está estimando es el estado nutricional a través de la proporción de grasa en el animal. Es una técnica muy sencilla y bastante precisa, se dan puntuaciones de 0 a 5, o sea de animal muy flaco a muy gordo (Kremer, 2004). En nuestro ensayo experimental los animales presentaron un valor de 3 en la escala de estado corporal (rango entre 2 y 4).

Análisis de datos:

- **Eficacia clínica:**

La eficacia de los tratamientos, se determinó utilizando el método de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales por gramo de materia fecal (Coles y col., 1992), para el caso de los BZD la segunda extracción de materia fecal debe realizarse a los 8-10 días. Este método es la prueba de elección por ser económica,

práctica y no necesitar de equipamiento sofisticado. La fórmula que permite estimar dicha eficacia es: R.C.H. % = $(1 - T_2/T_1 \times C_1/C_2) \times 100$; siendo T_2 el promedio aritmético del día 10 del grupo tratado, T_1 el promedio aritmético del día 0 del grupo tratado, C_1 el promedio aritmético del día 0 del grupo control (testigo sin tratar), C_2 el promedio aritmético del día 10 del grupo control (testigo sin tratar).

- *Análisis estadístico:*

Para ambos experimentos, se realizó un análisis estadístico descriptivo. La comparación entre grupos, se realizó mediante ANOVA y posteriores post-test, previa transformación logarítmica de los datos (hpg+1). El nivel de significancia fue de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Experimento I

Tabla 3: Resultados de hpg promedios y rangos de los días 0 y 12 y %R.C.H del experimento I.

	HPG		%R.C.H.
	D 0	D 12	
Ayuno	858 (120-2960)	761 (0 -2960)	-
No ayuno	862 (120-2640)	590 (0-2120)	-
Albendazol	860 (120-2960)	554 (0-2640)	20
Flubendazol	871 (120-2920)	787 (0-2960)	0
Control	849 (120-2640)	686 (0-2120)	-

HPG= huevos por gramo. () Rango de HPG. D0 = día 0 del experimento, D12 = día 12 del experimento. R.C.H. % = $(1 - T_2/T_1 \times C_1/C_2) \times 100$; T_2 el promedio aritmético del día 12 (D12) del grupo tratado, T_1 el promedio aritmético del día 0 (D0) del grupo tratado, C_1 el promedio aritmético del D0 del grupo control (testigo sin tratar), C_2 el promedio aritmético del D12 del grupo control (testigo sin tratar).

Al día 0 previo al inicio del experimento se partieron de grupos homogéneos donde no se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$), luego de aplicado el tratamiento al día 12, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo ayuno y no ayuno, y entre los tratamientos realizados con los diferentes antihelmínticos con un nivel de significación de $P < 0,05$.

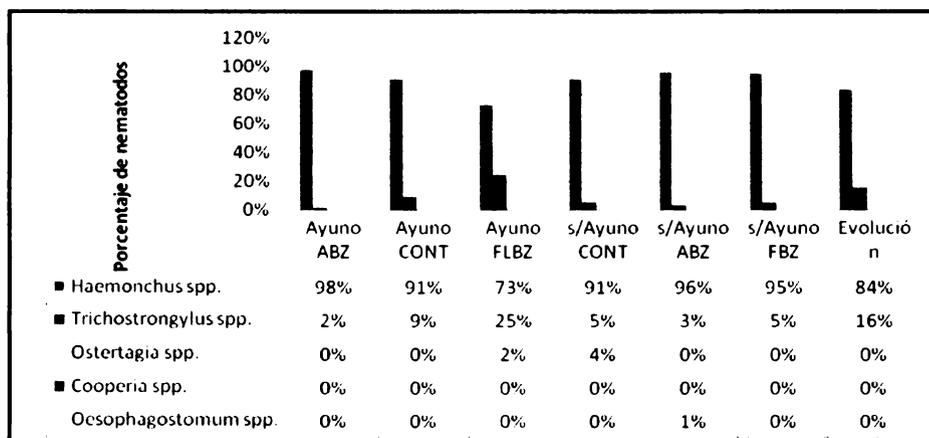


Figura 8: Porcentaje de nematodos gastrointestinales presentes en el cultivo de larvas del día 12 del experimento I.

El cultivo de larvas mostró una mayor prevalencia del parásito *H. contortus* como lo indica la Figura 8.

Experimento II:

FAU

Tabla 4: Resultados de hpg promedios y rango de los días 0 y 13 del experimento II, teniendo en cuenta la pre-selección con los diferentes antihelmínticos y las distintas dosis de ABZ y el %R.C.H.

		HPG		%R.C.H.
		D 0	D 13	
Pre-selección	Albendazol	910 (360-2640)	1160 (120-3760)	0
	Flubendazol	1092 (360-2000)	1037 (160-3280)	19
	Control	1067 (320-2120)	1248 (40-4280)	-
Albendazol	5 mg/kg	1083 (320-2640)	1673 ^a (320-420)	26
	15 mg/kg	1010 (360-1960)	693 ^b (200-1440)	67
	30 mg/kg	1127 (400-2360)	406 ^c (40-1480)	83
	Control	873 (360-2960)	1820 ^a (400-3560)	-

HPG= Huevos por gramo. () Rango de HPG. D0 = Día 0 del experimento, D13 = Día 13 del experimento. R.C.H. % = $(1 - T_2/T_1 \times C_1/C_2) \times 100$; T_2 el promedio aritmético del día 13 (D13) del grupo tratado, T_1 el promedio aritmético del día 0 (D0) del grupo tratado, C_1 el promedio aritmético del D0 del grupo control (testigo sin tratar), C_2 el promedio aritmético del D13 del grupo control (testigo sin tratar).

Al día 0 no se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos previos realizados al experimento.

Cuando se administró 5 mg/kg no hubo diferencias significativas respecto al grupo control pero si se encontraron diferencias entre las distintas dosis administradas de ABZ 5 mg/kg, 15 mg/kg y 30 mg/kg con un nivel de significación de $P < 0,05$.

Estos resultados no tuvieron diferencias significativas en cuanto si provenían de un tratamiento previo (ABZ, FLBZ o haya sido control).

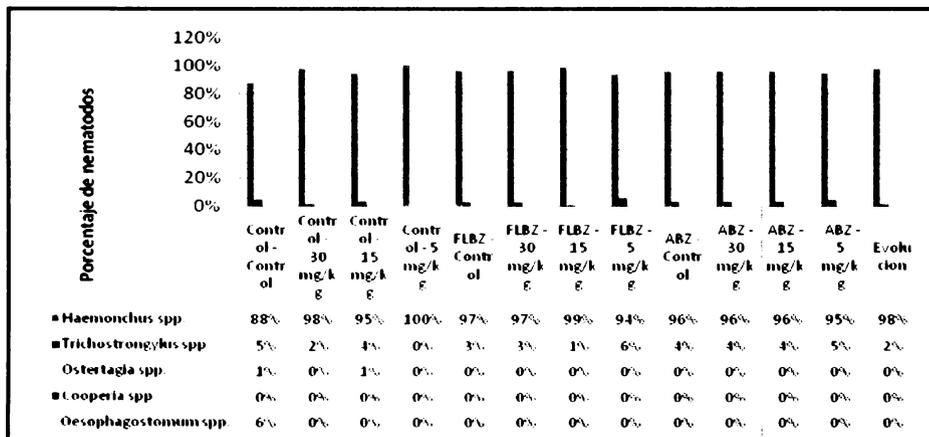


Figura 9: Porcentaje de nematodos gastrointestinales presentes en el cultivo de larvas del día 13 del experimento II.

El cultivo de larvas mostró una mayor prevalencia del parásito *H. contortus* como lo indica la Figura 9.

El grupo evolución indicó un crecimiento en la exposición parasitaria a lo largo de los experimentos como lo muestra la Figura 10.

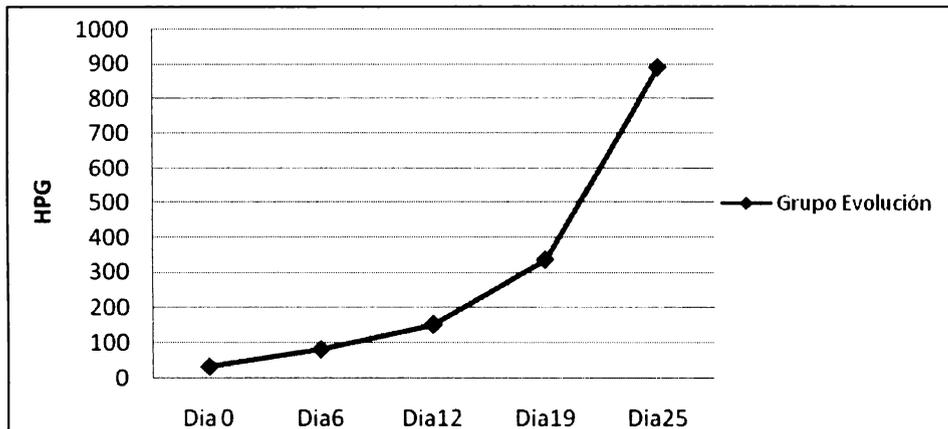


Figura 10: Evolución cronológica de valores de huevos por gramo del grupo evolución que involucra ambos experimentos (n=34).



DISCUSIÓN

Los BZD se introdujeron al principio de los años 60' del siglo pasado (Botana y col., 2002). En la evolución de los antihelmínticos, los BZD marcaron un avance trascendental para la terapéutica y control de los nematodos GI que afectan a los rumiantes en condiciones de pastoreo (Steffan y col., 2002). Entre las virtudes de estos compuestos se encuentran el amplio espectro incluyendo los estadios maduros, inmaduros e inhibidos de los nematodos, el efecto ovicida y la baja toxicidad (Steffan y col., 2002). El BZD metilcarbamato más utilizado en la actualidad es el ABZ, siendo efectivo contra nematodos pulmonares y GI, tenias y trematodos hepáticos (Botana y col., 2002). Los fármacos BZD poseen una hidrosolubilidad limitada, lo cual limita su administración a la vía oral (suspensiones, pastas, gránulos) siendo ésta de gran importancia en ovinos ya que es una vía muy utilizada para la administración de antihelmínticos. Son sustancias cristalinas estables y con alto punto de fusión (223-304 °C), solubles en alcohol y disolventes no polares (Botana y col., 2002).

Existen diferentes estudios que muestran claramente que la resistencia antihelmíntica de nematodos GI en ovinos del Uruguay es un problema muy grave y que ha aumentado rápidamente (Nari y col., 1996). Nari en 1992 diagnosticó un 60% de resistencia a los BZD en la región noroeste del departamento de Salto (Nari y col., 1996). En los años 1994-1995, DI.LA.VE y S.U.L realizaron un relevamiento para cuantificar la prevalencia de la resistencia antihelmíntica en la región, donde en Uruguay se registró 86% de resistencia a los BZD (Mederos, 2004). En los años 1999-2001, Castells y col. (2002) realizaron chequeos de resistencia antihelmíntica en los laboratorios de Salto (DONDO), Tacuarembó (INIA) y Florida (S.U.L) observando que en el 91% de los casos se encontró resistencia a los BZD. Durante los años 2002-2003 en INIA Tacuarembó se registró que un 96% de los establecimientos estudiados presentaron resistencia a los BZD (Mederos, 2004).

Nuestro experimento no fue ajeno a esta realidad nacional, donde se pudo observar que es un establecimiento que presentó resistencia a BZD. El porcentaje de reducción en el conteo de huevos (%R.C.H) para ABZ y FLBZ no presentaron diferencias significativas respecto al grupo control, lo que demuestra que no fueron eficaces para el control de la parasitosis a las dosis administradas. Según el W.A.A.V.P. (Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria) se asocia con resistencia antihelmíntica cuando hay %R.C.H. inferiores al 90% en bovinos y un 95% en ovinos (Coles y col., 1992).

El FLBZ al tener una molécula de fluor, le da una mayor potencia relativa frente al ABZ, es un antihelmíntico muy utilizado en explotaciones avícolas y porcinas (Junquera, 2012b). Este experimento no demostró diferencias entre ABZ y FLBZ, por lo que nos da a pensar que existe resistencia colateral entre estos dos antihelmínticos.

Se menciona la resistencia colateral que existe en el grupo de los BZD, justamente por actuar todos en el mismo receptor, la β tubulina: cuando esta proteína es alterada en los parásitos resistentes, ninguno de los miembros de este grupo puede unirse al receptor con alta afinidad (Márquez Lara, 2007).

Frente a esta situación de resistencia, debemos tener presente que existen alternativas para mejorar la eficacia de los BZD como la aplicación del ayuno (Křížová-Forstová y col., 2011) y la dosis administrada.

Křížová-Forstová y col. (2011) demostraron que un ayuno de 24 horas previo a la dosificación con ABZ en ovinos llevó a un aumento significativo de todos los parámetros farmacocinéticos en animales ayunados en comparación con animales no ayunados.

En nuestro experimento no hubo un efecto benéfico de los animales ayunados con respecto a los animales no ayunados. Si bien el ayuno pudiera haber aumentado los parámetros farmacocinéticos en sangre, a la dosis recomendada (ABZ 3,8 mg/kg, FLBZ 10 mg/kg) el mismo no afectó la concentración parasitaria en poblaciones resistentes.

El principal parásito involucrado en la resistencia fue *H. contortus*, como lo indican los cultivos de larvas, demostrando en su mayoría a esta especie parasitaria (> 90%), este hallazgo se condice con la epidemiología parasitaria, ya que es un parásito que prevalece en la estación en que se realizaron los experimentos.

Como se mencionó anteriormente el aumento de la dosis mejora la eficacia de los BZD. Álvarez y col. (2011) estudiaron las concentraciones en plasma de los metabolitos del ABZ (ABZSO – ABZSO₂) administrado a diferentes dosis (5-15-45 mg/kg) en corderos, encontraron que existe una relación dosis dependiente en cuanto a la concentración plasmática de ABZSO, aumentando AUC (área bajo la curva de concentración frente a tiempo), C_{max} (concentración máxima) y TMR (tiempo medio de residencia) luego de la administración de 15 y 45 mg/kg en comparación con el tratamiento con 5 mg/kg. Este aumento en las concentraciones plasmáticas de ABZSO no fue proporcional a la dosis, la misma puede estar asociada con una saturación de las vías enzimáticas implicadas en sus biotransformaciones. Álvarez y col. (2011) encontraron que la eficacia parasitológica de *H. contortus* resistente fueron de 16% (ABZ 5mg/kg), 59% (ABZ 15mg/kg) y 94% (ABZ 45mg/kg).

En este experimento (II) se partió de una población homogénea, donde al día 0 no hubo diferencias entre los tratamientos (ABZ, FLBZ y control). Al día 13 obtuvimos una reducción en el conteo de huevos del 67% cuando se administró ABZ a 15 mg/kg y 83 % a 30 mg/kg, resultados que se ratifican con los encontrados por Álvarez y col. (2011) con un incremento de 3 y 9 veces la dosis. En nuestro experimento, cuando se administró 5 mg/kg no hubo diferencias significativas respecto al grupo control, pero cuando aumentamos 3 veces la dosis de ABZ encontramos cambios significativos frente al grupo control y 5 mg/kg y cuando aumentamos 6 veces la dosis hubo diferencias significativas con respecto a los grupos anteriores. Si bien hubo una reducción significativa cuando se administró 15 y 30 mg/kg, no hubo un efecto de reversión de la resistencia por lo que hay un resto de la población que es resistente a estas concentraciones. A pesar de haber obtenido resultados similares a los de Álvarez y col., un incremento de la eficacia al aumentar la dosis, es de destacar que la metodología para la obtención de datos fue diferente, ya que ellos determinaron la eficacia parasitológica (a través de necropsia parasitaria) siendo un método de mayor confiabilidad para evaluar la sensibilidad de

los nematodos a los antihelmínticos (Fiel y col., 2001). Otra diferencia a resaltar es que utilizaron animales en estabulación, lo que hace que estos ovinos reciban una infestación única mientras que a campo natural reciben una oferta parasitaria constante.

La resistencia a BZD se ha correlacionado con cambios genéticos asociados con el gen de la β tubulina. Estos cambios, se centraron principalmente en la posición 200 y 167 del gen de la β tubulina, determinando una reducción en la afinidad al receptor, lo que explica el desarrollo de resistencia a los antihelmínticos BZD (Álvarez y col., 2011).

El inconveniente de recomendar dosis altas puede estar asociada con la selección de los nematodos de alta resistencia, además de los efectos sobre los residuos de medicamentos, los tiempos de espera, altos volúmenes de administración, etc. (Álvarez y col., 2011).

En ambos experimentos se dosificó con ABZ a similares dosis (3,8 y 5 mg/kg) encontrándose en el experimento I (ver Tabla 3) una disminución en los promedios de hpg al igual que el grupo control (entre los días 0 y 12), mientras que en el experimento II (ver Tabla 4) se encontró un aumento en el promedio de hpg de ambos grupos (5mg/kg y control), esto podría estar explicado a que hubo un aumento de la oferta parasitaria en la pastura (recambio generacional), como se puede apreciar en la Figura 10, que al día 19 hubo un aumento exponencial en el conteo de huevos del grupo evolución.

No se encontraron diferencias significativas si los animales provenían de haber sido tratados con ABZ, FLBZ (a las dosis recomendadas) o no haber recibido tratamiento (control).

CONCLUSIONES

El antiparasitario es un recurso necesario pero no renovable, en la medida que la resistencia va avanzando progresivamente sobre los más modernos grupos químicos disponibles. No existe antiparasitario resistente a la resistencia (Eddi y col., 2003). La resistencia parasitaria no es una enfermedad, es una consecuencia del control (Nari y Eddi, 2002). Una vez que la resistencia está instalada es muy difícil que el tiempo la revierta, ya que en el establecimiento hacía 9 años que no se administraba BZD y en el mismo se encontró resistencia. La reversión de la resistencia se define como la disminución de la frecuencia de individuos resistentes en una población de helmintos después de la retirada de uso de un antihelmíntico que estaba seleccionando para resistencia (Márquez Lara, 2003).

Debemos destacar que en el establecimiento nunca se había utilizado FLBZ por lo que era de esperar que siendo una molécula nueva en el establecimiento y con mayor potencia, fuera eficaz, pero se encontró resistencia a dicho antihelmíntico. Esto se explica porque existe resistencia colateral entre los fármacos de un mismo grupo.

El efecto del ayuno a la dosis recomendada en poblaciones resistentes no afectó la concentración parasitaria.

Un aumento de la dosis de ABZ llevó a una mayor reducción en el conteo de huevos pero sin haber revertido la resistencia. El inconveniente de recomendar dosis altas puede estar asociada con la selección de los nematodos de alta resistencia, además de los efectos sobre los residuos de medicamentos, los tiempos de espera y los altos volúmenes de administración requeridos (Álvarez y col., 2011).

Al ser una droga de muy amplio espectro (estadios maduros, inmaduros e inhibidos de los nematodos, efecto ovicida, tenicida y trematodocida) y de baja toxicidad hace que el ABZ sea una alternativa en la dosificación de corderos ya que son sensibles a distintas especies parasitarias. En animales de descarte para consumo habría que realizar estudios de residualidad en carne a altas concentraciones.

Es necesario utilizar un sistemas de Control integrado de parásitos, a efectos de contrarrestar los efectos producidos por la resistencia parasitaria (Nari, 2003). Este control combina la aplicación de tratamientos antihelmínticos, tácticos o estratégicos, con las medidas de manejo que permitan brindar a los animales pasturas poco contaminadas (Fiel, 2005).

BIBLIOGRAFÍA

1. **Alvarez, L, Suárez, G, Ceballos, L, Moreno, L, Lanusse, C (2011).** Dose-dependent systemic exposure of albendazole metabolites in lambs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 35 (4): 365-372.
2. **Antúnez, P (2012).** Rubro ovino apuesta a crecer con Ovimpiadas 2012. Disponible en: www.elpais.com.uy/120429/pecono-638690/economia/rubro-ovino-apuesta-a-crecer-con-ovimpiadas-2012/. Fecha de consulta: 11 de julio de 2012.
3. **Bonino, J (2002).** Resistencia antihelmíntica de Parásitos Gastrointestinales en Ovinos. En: Castells, D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Montevideo, FAO, p. 55-60.
4. **Botana, L M, Landoni, F, Martín Jiménez, T (2002).** Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 790 p.
5. **Castells, D (1990).** Métodos de control de nematodos gastrointestinales en ovinos. En: Secretariado Uruguayo de la Lana: Resistencia antihelmíntica en ovinos. Montevideo, SUL, p. 20-28.
6. **Castells, D (2002).** Nuevo enfoque en el control parasitario de ovinos. En: Castells, D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Montevideo, FAO, p. 17-24.
7. **Castells, D, Mederos, A, Lorenzelli, E, Macchi, I (2002).** Diagnósticos de resistencia antihelmíntica de *Haemonchus* spp. a las Ivermectinas en el Uruguay. En: Castells, D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Montevideo, FAO, p. 61-66.
8. **Castells, D (2004).** Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay. Serie de Actividades de Difusión N° 359: Nematodos gastrointestinales de los ovinos y saguaipé en ovinos y bovinos. INIA Tacuarembó, Uruguay, 32 p.
9. **Coles, G C, Bauer, C, Borgsteede, F H, Geerts, S, Klei, T R, Taylor, M A, Waller, P J (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. *Vet. Parasitol.* 44:35-44.
10. **Eddi, C, Benavides, E, Martins, J, Nari, A (2003).** Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Roma, FAO, 51 p.
11. **Fiel, C, Steffan, P (1994).** Epidemiología de los nematodos gastrointestinales en la Pampa húmeda. En: Nari, A; Fiel, C. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, p. 67-94.

12. **Fiel, C, Anziani, O, Suarez, V, Vazquez, R, Eddi, C, Romero, J, Caracostantogolo, J, Saumell, C, Mejía, M, Costa, J, Steffan, P (2001).** Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. *Vet. Arg.* 18 (171): 21-33.
13. **Fiel, C (2005).** Manual técnico: antiparasitarios internos y endectocidas de bovinos y ovinos. Disponible en: www.producción-animal.com.ar. Fecha de consulta: 30 de enero de 2012.
14. **Junquera, P (2012a).** Benzimidazoles como antihelmínticos para el control de gusanos. Disponible en: www.parasitosdelganado.net. Fecha de consulta: 18 de junio de 2012.
15. **Junquera, P (2012b).** Flubendazol para uso veterinario en el ganado porcino, aves, perros y gatos contra gusanos nematodos. Disponible en: www.parasitosdelganado.net. Fecha de consulta: 30 de junio de 2012.
16. **Kremer, R (2004).** Estimación del estado nutricional del ovino en pie y terminación en carcasas. Montevideo, Depto. Ovinos, Lanos y Caprinos, 5 p.
17. **Křížová-Forstová, V, Lamka, J, Cvilink, J, Hanušová, V, Skálová, L (2011).** Factors affecting pharmacokinetics of benzimidazole anthelmintics in food-producing animals: The consequences and potential risks. *Res. Vet. Sci.* 91 (3): 333-341.
18. **Lanusse, C (1994).** Bases Farmacológicas de la Terapéutica Antihelmíntica. En: Nari, A, Fiel, C. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, p. 33-65.
19. **Lapage, G (1971).** Parasitología veterinaria. México, CECOSA, 790 p.
20. **Márquez Lara, D (2003).** Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control. *Revista Corpoica* 4(1): 55-71.
21. **Márquez Lara, D (2007).** Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control. Bogotá, CORPOICA, 168 p.
22. **Mederos, A (2002).** Epidemiología de los nematodos gastrointestinales de los ovinos en Uruguay. Jornada Técnica: Parasitosis gastrointestinales de los ovinos. Situación actual y avances de la investigación. INIA Tacuarembó, Uruguay, p. 2-5.
23. **Mederos, A (2004).** Evolución de la resistencia antihelmíntica en ovinos. Serie de Actividades de Difusión N° 359: Nematodos gastrointestinales de los ovinos y sagaipé en ovinos y bovinos. INIA Tacuarembó, Uruguay, p. 12-20.
24. **MGAP, DICOSE (2011)** (División Contralor Semovientes). Disponible en: www.mgap.gub.uy/DGSG/DICOSE/dicose.htm. Fecha de consulta: 1 de febrero de 2012.

25. **MGAP, DIEA (2010)**. Censo General Agropecuario. Disponible en www.mgap.gub.uy. Fecha de consulta: 1 de febrero de 2012.
26. **Nari, A, Robledo, M, Dambrauskas, G, Rizzo, E, Elizalde, M, Bugarin, J (1986)**. Manejo antiparasitario del cordero de destete en campo natural: II pastoreo alterno con bovinos en área de basamento cristalino. Séptimas Jornadas Veterinarias de Ovinos. Tacuarembó, Uruguay, p. 15-21.
27. **Nari, A (1987)**. Enfoque epidemiológico sobre el diagnóstico y control de resistencia a antihelmínticos en ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, 60 p.
28. **Nari, A, Salles, J, Gil, A, Waller, P J, Hansen, J W (1996)**. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasitic of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Vet. Parasitol.* 62:213-222.
29. **Nari, A, Eddi, C (2002)**. Control integrado de las parasitosis. En: Castells, D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Montevideo, FAO, p. 11-16.
30. **Niec, R (1968)**. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Buenos Aires, INTA, 28 p.
31. **Olaechea, F (2005)**. Ecto y endoparásitos, epidemiología y control. Seminario de actualización en ovinos. INTA Bariloche. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta: 7 de diciembre de 2011.
32. **Salles, J (2002)**. FAMACHA. Una herramienta para controlar la resistencia antihelmíntica en pequeños rumiantes. En: Castells, D. Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos. Montevideo, FAO, p. 41-48.
33. **S.U.L (Secretariado Uruguayo de la Lana)**. Producción Ovina. Disponible en: www.sul.org.uy/lana_produccion_ovina.asp. Fecha de consulta: 1 de febrero de 2012.
34. **Steffan, P, Fiel, C, Ferreyra, D, Monfrinotti, A (2002)**. Eficacia del Ricobendazole - vía subcutánea - contra los nematodos gastrointestinales del bovino. *Rev. Inv. Agrop. (INTA)* 31 (3): 89-101.
35. **Suárez, V, Olaechea, F, Rossanigo, C, Romero, J (2007)**. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Anguil, INTA, 296 p.

ANEXOS

Tabla con valores de huevos por gramo individual de los días 0 y 12 del experimento I.

Animal	Block	Factor 1	Factor 2	hpg D0	hpg D12
48	1	Ayuno	ABZ	120	0
99	2	Ayuno	ABZ	160	0
74	3	Ayuno	ABZ	200	400
51	4	Ayuno	ABZ	280	0
87	5	Ayuno	ABZ	320	40
120	6	Ayuno	ABZ	400	840
93	7	Ayuno	ABZ	480	40
43	8	Ayuno	ABZ	640	400
62	9	Ayuno	ABZ	760	120
56	10	Ayuno	ABZ	800	160
91	11	Ayuno	ABZ	1360	600
69	12	Ayuno	ABZ	1680	2640
100	13	Ayuno	ABZ	1960	2360
86	14	Ayuno	ABZ	2960	1960
50	1	Ayuno	control	120	240
88	2	Ayuno	control	160	200
54	3	Ayuno	control	200	320
7	4	Ayuno	control	320	200
26	5	Ayuno	control	360	40
109	6	Ayuno	control	400	40
80	7	Ayuno	control	480	120
24	8	Ayuno	control	640	1280
38	9	Ayuno	control	800	960
97	10	Ayuno	control	840	440
78	11	Ayuno	control	1240	1120
12	12	Ayuno	control	1600	1280
49	13	Ayuno	control	1840	1600
108	14	Ayuno	control	2640	1960
96	1	Ayuno	FLBZ	120	0
63	2	Ayuno	FLBZ	160	120
107	3	Ayuno	FLBZ	200	240
27	4	Ayuno	FLBZ	320	80
2	5	Ayuno	FLBZ	360	1360
15	6	Ayuno	FLBZ	440	560
70	7	Ayuno	FLBZ	440	240
37	8	Ayuno	FLBZ	640	800
113	9	Ayuno	FLBZ	760	560
67	10	Ayuno	FLBZ	840	600
92	11	Ayuno	FLBZ	1560	1480
98	12	Ayuno	FLBZ	1560	1880
104	13	Ayuno	FLBZ	1960	1720
42	14	Ayuno	FLBZ	2920	2960

Animal	Block	Factor 1	Factor 2	hpg D0	hpg D12
41	1	sin ayuno	ABZ	120	480
18	2	sin ayuno	ABZ	160	0
1	3	sin ayuno	ABZ	240	120
90	4	sin ayuno	ABZ	240	80
116	5	sin ayuno	ABZ	360	720
102	6	sin ayuno	ABZ	400	280
73	7	sin ayuno	ABZ	520	360
65	8	sin ayuno	ABZ	560	360
75	9	sin ayuno	ABZ	680	360
95	10	sin ayuno	ABZ	960	920
16	11	sin ayuno	ABZ	1240	120
33	12	sin ayuno	ABZ	1800	840
46	13	sin ayuno	ABZ	2120	560
10	14	sin ayuno	ABZ	2560	760
25	1	sin ayuno	control	120	0
112	2	sin ayuno	control	120	240
66	3	sin ayuno	control	240	400
3	4	sin ayuno	control	280	240
57	5	sin ayuno	control	360	880
53	6	sin ayuno	control	400	920
101	7	sin ayuno	control	480	400
31	8	sin ayuno	control	560	200
14	9	sin ayuno	control	720	920
77	10	sin ayuno	control	960	1440
20	11	sin ayuno	control	1200	1040
6	12	sin ayuno	control	1840	320
39	13	sin ayuno	control	2400	280
35	14	sin ayuno	control	2440	2120
34	1	sin ayuno	FLBZ	120	280
13	2	sin ayuno	FLBZ	160	120
84	3	sin ayuno	FLBZ	240	400
36	4	sin ayuno	FLBZ	280	120
72	5	sin ayuno	FLBZ	360	120
61	6	sin ayuno	FLBZ	400	360
114	7	sin ayuno	FLBZ	480	120
29	8	sin ayuno	FLBZ	560	160
83	9	sin ayuno	FLBZ	680	1480
68	10	sin ayuno	FLBZ	880	480
4	11	sin ayuno	FLBZ	1200	1080
105	12	sin ayuno	FLBZ	1760	1520
94	13	sin ayuno	FLBZ	2360	1200
11	14	sin ayuno	FLBZ	2640	2000

Resultados de hpg individual de los días 0 y 13 del experimento II, teniendo en cuenta la pre-selección con los diferentes antihelmínticos y las distintas dosis de ABZ.

Animal	Pre-selección	Factor 1	hpgD0	hpgD13
75	ABZ	15mg	360	400
46	ABZ	15mg	560	200
10	ABZ	15mg	760	1160
86	ABZ	15mg	1960	1160
74	ABZ	30mg	400	120
43	ABZ	30mg	400	240
116	ABZ	30mg	720	240
100	ABZ	30mg	2360	520
65	ABZ	5mg	360	840
41	ABZ	5mg	480	720
33	ABZ	5mg	840	1400
69	ABZ	5mg	2640	3760
73	ABZ	control	360	920
91	ABZ	control	600	1440
120	ABZ	control	840	3320
95	ABZ	control	920	2120
101	control	15mg	400	480
38	control	15mg	960	440
24	control	15mg	1280	1120
77	control	15mg	1440	1440
66	control	30mg	400	40
14	control	30mg	920	160
78	control	30mg	1120	600
35	control	30mg	2120	360
6	control	5mg	320	320
57	control	5mg	880	1120
12	control	5mg	1280	1440
49	control	5mg	1600	4280
97	control	control	440	600
53	control	control	920	1120
20	control	control	1040	3560
108	control	control	1960	2880

Animal	Pre-selección	Factor 1	hpgD0	hpgD13
15	FLBZ	15mg	560	440
67	FLBZ	15mg	600	200
105	FLBZ	15mg	1520	560
104	FLBZ	15mg	1720	720
84	FLBZ	30mg	400	560
94	FLBZ	30mg	1200	160
83	FLBZ	30mg	1480	1480
11	FLBZ	30mg	2000	400
113	FLBZ	5mg	560	320
37	FLBZ	5mg	800	560
2	FLBZ	5mg	1360	2040
98	FLBZ	5mg	1880	3280
61	FLBZ	control	360	1280
68	FLBZ	control	480	400
4	FLBZ	control	1080	1960
92	FLBZ	control	1480	2240