

Detección de resistencia en *Haemonchus contortus* al sulfóxido de albendazol inyectado mediante la prueba de campo de reducción de huevos en ganado ovino

Juan Antonio Figueroa Castillo*
Rubén Danilo Méndez Medina*
José Manuel Berruecos Villalobos**
Jorge Armando Álvarez León***

Abstract

The objective of this study was to compare the efficacy of albendazole sulfoxide and levamisol against *H. contortus* in sheep. Animals were grouped according to the homogeneity of egg elimination. Group I (n = 19) was treated with albendazole sulfoxide, and Group II (n = 19) with levamisol. Both groups were injected by the recommended dose intramuscularly. Group III (n = 18) without treatment, was considered as the control one. Percentage of egg reduction on feces (PER), confidence interval at 95% (CI), and percentage of positive animals (PPA) were calculated at seven and fourteen days after treatment (DAT). At 7 DAT, Group I had a PER of 65.9%, (CI = 44-79%), and a PPA of 100%, Group II had a PER of 99.7% (CI = 99-100%), and a PPA of 15.8%. At 14 DAT, Group I had a PER of 66.2% (CI = 13-70%), and a PPA of 84%; whereas Group II had a PER of 100% (CI of 100%), and a PPA of 0%. Group III had always a PPA of 100%. Results indicate the presence of a resistant *H. contortus* population to albendazole sulfoxide. This is the first report on the resistance of this nematode to albendazole sulfoxide which is considered as the first option of treatment against this parasite.

Key words: RESISTANCE, ALBENDAZOLE SULFOXIDE, *Haemonchus contortus*, OVINE.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue comparar la eficacia del sulfóxido de albendazol y de levamisol contra *H. contortus* en ovinos infectados experimentalmente. Se formaron tres grupos homogéneos en cuanto a eliminación de huevos. grupo I (n = 19) fue tratado con sulfóxido de albendazol, grupo II (n = 19) con levamisol, ambos vía intramuscular, a la dosis recomendada por el fabricante. El Grupo III (n = 18) no recibió tratamiento y sirvió como testigo. Se calculó el porcentaje de reducción de huevos en heces (PRH), el intervalo de confianza al 95% (IC) y el porcentaje de animales positivos (PAP) a los siete y catorce días después del tratamiento (DPT). A los siete DPT, el grupo I tuvo un PRH de 65.9% (IC = 44%-79%) y un PAP = 100%, mientras que en el grupo II el PRH fue de 99.7% (IC = 99% -100%) y el PAP de 15.8%. A los 14 DPT, el grupo I tuvo un PRH de 66.2% (IC = 13%-70%) y un PAP de 84%. En el grupo II el PRH fue de 100% (IC = 100%) y el PAP fue del 0%. El grupo III siempre tuvo un PAP del 100%. Los resultados indican la presencia de una población de *H. contortus* resistente al sulfóxido de albendazol. Aunque existen trabajos sobre resistencia de este parásito a bencimidazoles en México, ésta no se había registrado en contra del sulfóxido de albendazol inyectado, el cual está considerado como de primera elección contra estos nematodos.

Recibido el 31 de marzo de 2000 y aceptado el 12 de septiembre de 2000.

* Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F. ficajuan@servidor.unam.mx, menmed@servidor.unam.mx

** Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

*** Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 136, Martínez de la Torre, Veracruz, 93600, México.

Palabras clave: RESISTENCIA, SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL, HAEMONCHUS CONTORTUS, OVINOS.

Introducción

El control de los nematodos gastrointestinales en el ganado se basa en sustancias químicas conocidas como antihelmínticos. El uso frecuente de estos fármacos conlleva al desarrollo de resistencia a ellos, debido a que en cada tratamiento sobrevive un porcentaje muy pequeño de nematodos resistentes a su efecto; al cabo de varias desparasitaciones, esta población se hace dominante y muestra una franca resistencia al antihelmíntico utilizado.¹

La resistencia antihelmíntica ha sido definida como la habilidad individual y heredable de los nematodos, de sobrevivir a la dosis terapéutica de un antihelmíntico;² las primeras evidencias surgieron en 1957, cuando la fenotiacina falló en el control de *Haemonchus contortus* en un rebaño ovino. Para la década de los años 60 las notificaciones de fallas de los tratamientos involucraban a nuevos fármacos como el tiabendazol.³ Actualmente se ha notificado resistencia a la mayoría de los nematocidas disponibles en el mercado,⁴ incluyendo los de nueva generación como la ivermectina, moxidectina y doramectina.^{5, 6} Sin embargo, son escasos los estudios que indican qué tan difundida y frecuente es la resistencia a los antihelmínticos.³

En México, Campos⁷ notificó por primera vez la presencia de una población de *H. contortus* resistente a los bencimidazoles. En 1992 Campos *et al.*⁸ identificaron tres poblaciones más resistentes al albendazol, fenbendazol, oxfendazol y febantel en borregos.

En 1998 Negrete *et al.*⁹ observaron nula efectividad del fenbendazol a dosis de 5 mg/kg contra *H. contortus* en ovinos de Chapa de Mota, Estado de México; al duplicar la dosis, la efectividad de este antihelmíntico fue del 49%.

También en 1998, Salas *et al.*¹⁰ informaron baja efectividad (34%) del oxfendazol contra *H. contortus* en ovinos de Tlapacoyan, Veracruz. En 1999 en el mismo lugar, Figueroa *et al.*¹¹ detectaron nula efectividad del sulfóxido de albendazol en ovinos infectados naturalmente.

Haemonchus contortus es uno de los nematodos que desarrollan rápidamente resistencia a los antihelmínticos. A los tres años de haber ingresado el tiabendazol al mercado se presentaron los primeros informes de resistencia, y a los cuatro años se encontró el mismo resultado para la ivermectina.¹² Por esta razón, es necesario evaluar periódicamente la efectividad de los antiparasitarios utilizados en las explotaciones animales. El sulfóxido de albendazol es un metabolito activo del albendazol y la presentación inyectable es relativamente de reciente introducción en México.

El objetivo de este trabajo fue verificar la efectividad del sulfóxido de albendazol y del levamisol, contra *Haemonchus contortus* en un rebaño de ganado ovino en el que no se observaba mejoría de los animales al desparasitar con bencimidazoles.

Material y métodos

El estudio se realizó en noviembre de 1999 en un rebaño de ovinos de pelo en pastoreo, ubicado en el municipio de Tlapacoyan, Veracruz, México. Se utilizaron 56 borregos, entre machos y hembras, de la raza Pelibuey, recién destetados. Al inicio del estudio los corderos se desparasitaron con fenbendazol (7.5 mg/kg) e ivermectina (0.2 mg/kg) para eliminar los helmintos que tenían (*Moniezia* sp y *Strongyloides papillosus*). Se alojaron en corrales elevados con piso de rejilla y se alimentaron con concentrado y avena henificada para evitar que se reinfectaran con nematodos. Los días siete y 21 después del tratamiento se verificó que fueran negativos a helmintos mediante la técnica de flotación.¹³ El día 28 cada uno fue infectado vía oral con 3 000 larvas de *H. contortus* suspendidas en agua.

Se colectaron muestras de heces directamente del recto y se cuantificó la eliminación de huevos mediante la técnica de McMaster¹³ cada siete días hasta el día 42, en que todos los animales infectados tuvieron eliminaciones de 500 o más huevos por gramo de heces. Este criterio es superior al que marca la

Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP, por sus siglas en inglés)^{*14,15} que es de 200 huevos/g como mínimo cuando se quiere probar la efectividad de un antihelmíntico.

Se formaron tres grupos, sin diferencias estadísticas entre ellos ($P < 0.05$); los animales de cada grupo se pesaron y desparasitaron.

El grupo I ($n = 19$) fue desparasitado vía intramuscular con sulfóxido de albendazol^{**} a dosis de 5 mg/kg. El grupo II ($n = 19$) se desparasitó vía intramuscular con levamisol^{***} a dosis de 7.5 mg/kg. En ambos casos, las dosis utilizadas fueron las recomendadas por el fabricante. El grupo III ($n = 18$) permaneció como testigo y no recibió tratamiento. Los días siete y 14 después del tratamiento se colectaron heces y se calculó el porcentaje de reducción de huevos y el intervalo de confianza al 95%, de acuerdo con los lineamientos de la WAAVP.¹⁴

Las larvas para la infección se obtuvieron de dos corderos infectados *ex profeso* a partir de huevos obtenidos de hembras de *H. contortus*, colectadas a la necropsia de un ovino de la explotación donde se realizó el trabajo.

Las larvas para el inóculo se obtuvieron de la siguiente forma: se sacrificó un cordero y directamente del abomaso se colectaron todos los nematodos presentes, se separaron las hembras de *H. contortus* (300), se lavaron y se mantuvieron vivas durante cuatro horas a 37°C en solución fisiológica para que depositaran sus huevos. Los huevos se recuperaron por centrifugación y se incubaron a 30°C durante 5 días en una caja de Petri con PBS y hule espuma, se recuperaron 1 000 larvas con las que se inoculó un cordero sin parásitos (desparasitado, alimentado con forraje seco y mantenido en corral con piso de rejilla y se verificaba que estuviera libre de nematodos).

Después de 21 días ya se encontraban huevos en las heces, se hizo coprocultivo y se verificó que el único género fuera *Haemonchus*. Se colectaron heces varias veces al día y se pusieron en coprocultivo; con las que se obtuvieron se infectaron otros dos corderos con 3 000 larvas cada uno y éstos sirvieron como donadores para los demás corderos

Resultados

El promedio de eliminación de huevos por gramo de heces (hpgh) después del tratamiento fue menor en el grupo II y mayor en el grupo III. A los siete días después del tratamiento en el grupo I fue de 813; en el grupo II, de 8 y en el grupo testigo de 2 300 hpgh; 14 días después del tratamiento en el grupo I fue de 776; en el grupo II, de 0; y en el grupo testigo, de 2 300 hpgh (Cuadro 1).

El sulfóxido de albendazol (grupo I) redujo la eliminación de huevos en las heces el día siete (66%) y el día catorce (66.2%), mientras que el levamisol (grupo II) redujo la eliminación de huevos 99.7% y 100%, respectivamente, demostrando mayor efectividad (Cuadro 2)

El día del tratamiento el porcentaje de animales positivos fue de 100 en los tres grupos, en el grupo I disminuyó a 84 hasta 14 días después del tratamiento; en el grupo II disminuyó a 15.78 el día 7 y a 0 el día 14 después del tratamiento; en el grupo III siempre fue de 100% (Cuadro 3).

La cinética de eliminación de huevos de *H. contortus* antes y después del tratamiento se observa en la Figura 1, se aprecia que el día cero los tres grupos tenían eliminaciones similares y después del tratamiento baja considerablemente la eliminación del grupo II tratado con levamisol más del 90%, mientras que en el grupo I tratado con sulfóxido de albendazol sólo disminuye alrededor del 60%. Por otra parte, el grupo III sin tratamiento permanece prácticamente sin variación.

* WAAVP, World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.

** Pharma-Logic, inc.

*** Novartis.

Discusión

El sulfóxido de albendazol no redujo significativamente la eliminación de huevos en las heces ni el número de animales positivos, a diferencia del levamisol.

De acuerdo con los lineamientos de la WAAVP, hay resistencia a los bencimidazoles o ivermectina cuando el porcentaje de reducción de huevos en las heces es inferior a 95 y el intervalo de confianza a 95 es inferior a 90%. Si sólo se presenta alguno de estos dos criterios, se sospecha de resistencia.¹⁴ Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la población de *H. contortus* presente en este rebaño es resistente al sulfóxido de albendazol y sensible al levamisol.

La baja efectividad del sulfóxido de albendazol contra *H. Contortus*, coincide con un ensayo previo realizado en el mismo lugar pero con ovinos infectados naturalmente.¹¹ También coincide en lo general con Cruz,¹⁶ quien observó una baja efectividad (63.7%) de este compuesto a dosis de 5 mg/kg en ovinos infectados experimentalmente con *H. contortus*; al incrementar la dosis a 7.5 mg/kg, la efectividad incluso disminuyó a 49.3%.

La baja efectividad del oxfendazol registrada por Salas *et al.*¹⁰ en este mismo sitio, así como la baja efectividad del sulfóxido de albendazol observada en este trabajo y el de Figueroa *et al.*,¹¹ sugieren la presencia de una población de *H. contortus* resistente a los bencimidazoles.

La resistencia en este caso se conoce como resistencia lateral y ocurre cuando los nematodos resistentes a un antihelmíntico también lo son a compuestos pertenecientes al mismo grupo químico, aunque nunca hayan estado expuestos. La resistencia lateral se presenta en el grupo de los bencimidazoles, imidazotiazoles y avermectinas.⁴

De acuerdo con Rowlands,² la baja efectividad de un nematocida debe interpretarse como resistencia antihelmíntica. En este trabajo se utilizó la prueba de reducción de huevos en las heces para evaluar la efectividad de dos antihelmínticos, aunque dicha prueba es de elección en el campo por ser rápida, económica, efectiva y es clave en la detección temprana de resistencia a los antihelmínticos no cuantifica el grado de resistencia; por lo tanto, se recomienda realizar una prueba *in vitro* que permita cuantificar el grado de resistencia a los bencimidazoles.

Por otra parte, el levamisol continúa siendo efectivo contra esta población de *H. contortus*; el alto porcentaje de reducción de huevos en las heces coincide con el obtenido por Salas *et al.*¹⁰ y Figueroa *et al.*¹¹ en este mismo lugar. Por lo anterior, se recomienda su uso en el control de *H. contortus*, sin olvidar evaluar periódicamente su efectividad.

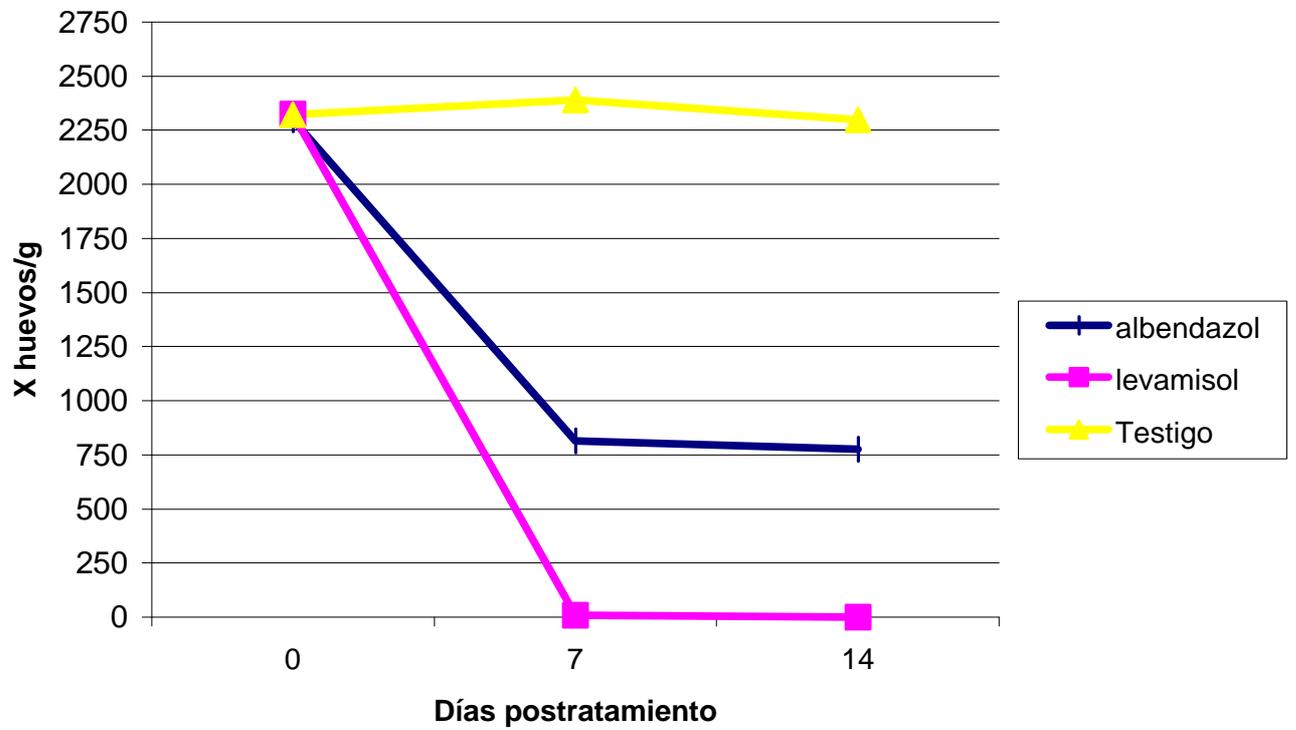
Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) que financió el Proyecto de Investigación 1123PB para este trabajo; también al personal técnico y administrativo del CEIEGT, por el apoyo logístico brindado durante la realización de este ensayo, especialmente a Jorge Becerra López y a Braulio Alfredo Ruiz Carranza.

Referencias

1. Kelly JD, Hall CA. Resistance of animal helminthes to anthelmintics. *Adv Pharmacol Chemother* 1983;16:89-127.
2. Rowlands DT. Anthelmintic resistance- the right perspective. *Vet Pract* 1989;21:143-147.
3. Rowlands DT. Anthelmintic resistance- can science win? *Br Vet J* 1993;149:117- 119.
4. Sangster NC. Anthelmintic resistance: past, present and future. *Int J Parasitol* 1999; 29:115-124.
5. Shoop WL, Haines HW, Michael BF, Eary CH. Mutual resistance to avermectins and milbemycins: oral activity of ivermectin and moxidectin against ivermectin-resistant and susceptible nematodes. *Vet Rec* 1993;133:445-447.
6. Vermunt JJ, West DM, Pomroy WE. Inefficacy of moxidectin and doramectin against ivermectin-resistant *Cooperia spp.* of cattle in New Zealand. *NZ Vet J* 1996;44:188-193.
7. Campos RR. Resistencia de *Haemonchus contortus* a bencimidazoles en ovinos de México. *Téc Pecu Méx* 1990;28:30-34.
8. Campos RR, Herrera RD, Quiroz RH. Diagnóstico *in vitro* de *Haemonchus contortus* resistente al albendazol, fenbendazol, oxfendazol y febantel en tres rebaños de ovinos Tabasco o Pelibuey. *Vet Méx* 1992;23:51-56.
9. Negrete TP, Méndez MD, Figueroa CJA, Quiroz RH, Dávalos NE. Efecto extensión e intensidad de moxidectina, ivermectina y fenbendazol contra nematodos gastrointestinales en ganado ovino en pastoreo en bosque. *Memorias del XIII Congreso Nacional de Parasitología*; 1998 octubre 8-10; Zacatecas (Zacatecas) México. México (DF): Sociedad Mexicana de Parasitología, A.C., 1998;60.
10. Salas GB, Méndez MD, Figueroa CJA, Quiroz RH. Eficacia de antihelmínticos en ovinos de la raza Tabasco en trópico húmedo. *Memorias del XIII Congreso Nacional de Parasitología*; 1998 octubre 8-10; Zacatecas (Zacatecas) México. México (DF): Sociedad Mexicana de Parasitología, A.C., 1998;60.
11. Figueroa CJA, Méndez MRD, Berruecos VJM, Alvarez LJA. Eficacia del sulfóxido de albendazol y el levamisol contra una población de *Haemonchus contortus* en ganado ovino. *Memorias del XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología*; 1999 octubre 11-16. Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Federación Latinoamericana de Parasitología, 1999;131.
12. Vieira LS, Berne MEA, Cavalcante ACR, Costa CAF. *Haemonchus contortus* resistance to ivermectin and netobimin in Brazilian sheep. *Vet Parasitol* 1992;45:111-116.
13. Acevedo HA, Romero CE, Quintero MMT. *Manual de prácticas de laboratorio de parasitología*. México (DF): Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
14. Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MD, Waller PJ. 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* 1992;44:35-44.
15. Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB Jr, *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet Pract* 1995;58:81-213.
16. Cruz AM. Estudio preliminar sobre la acción antiparasitaria del sulfóxido de albendazol inyectable contra *Haemonchus contortus* en ovinos infectados artificialmente (tesis de licenciatura). Cuautitlán (Edo.de Méx.): Facultad de Estudios Superiores–Cuautitlán. UNAM, 1997.

Figura 1.
Efectividad del sulfóxido de albendazol y levamisol contra
H. contortus



Cuadro 1
 NÚMERO DE HUEVOS DE *Haemonchus contortus* POR GRAMO DE HECES
 EN OVINOS TRATADOS CON SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL Y LEVAMISOL

Grupo	Día 0	Día 7	Día 14
	tratamiento	postratamiento	postratamiento
	promedio ± d.e	promedio ± d.e	promedio ± d.e
S. de albendazol (I)	2 297 ± 1 607	813 ± 744	776 ± 783
Levamisol (II)	2 326 ± 1 458	8 ± 19	0 ± 0
Testigo (III)	2 322 ± 1 481	2 389 ± 1 220	2 300 ± 1 092

Cuadro 2
 PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE HUEVOS DE *Haemonchus contortus* EN OVINOS TRATADOS
 CON SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL Y LEVAMISOL

Grupo	% de reducción (IC 95%) día siete postratamiento	% de reducción (IC 95%) día 14 postratamiento
	S. de albendazol (I)	65.9 (44 - 79)
Levamisol (II)	99.7 (99 - 100)	100 (100 - 100)

Cuadro 3
 PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS A *Haemonchus contortus* DESPUÉS
 DEL TRATAMIENTO CON SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL Y LEVAMISOL

Grupo	Día 0	Día 7	Día 14
	tratamiento	postratamiento	postratamiento
S. de albendazol (I)	100	100	84
Levamisol (II)	100	15.8	0
Testigo (III)	100	100	100