

01672 6
20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFICACIA DEL NETOBIMIN CONTRA POBLACIONES DE
Haemonchus Contortus
RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES AL ALBENDAZOL

T E S I S

PRESENTADA PARA LA OBTENCION

DEL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

FELIX R. HERAS BAROJA

México, D. F.

TESIS CON
FALLA LE ORGEN

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Página

I. INTRODUCCION.....	3
1.1 Presentación del problema.....	3
1.2 Revisión de literatura.....	6
1.2.1 <u>Haemonchus contortus</u> y la hemoncosis en ovinos.....	6
1.2.2 Antihelmínticos más usados en el control de la hemoncosis ovina.....	14
1.2.2.1 Fenotiacinas.....	15
1.2.2.2 Organofosforados.....	15
a) Haloxón.....	15
b) Coumaphos.....	16
c) Naphthalophos.....	16
1.2.2.3 Bencimidazoles.....	17
a) Tiabendazol.....	17
b) Parbendazol.....	18
c) Cambendazol.....	18
d) Mebendazol.....	18
e) Fenbendazol.....	19
f) Oxfendazol.....	19
g) Albendazol.....	20
h) Mecanismo de acción.....	20
1.2.2.4 Imidazotiasoles.....	22
1.2.2.5 Probencimidazoles.....	22
a) Febantel.....	23
b) Tiofonato.....	23
c) Netobimin.....	23
1. Características y antecedentes.....	24
2. Mecanismo de acción.....	26
3. Toxicidad.....	27
1.2.2.6 Avermectinas.....	27
1.2.3 Presentación de resistencia antihelmíntica.....	28
1.2.3.1 Definición.....	28
1.2.3.2 Resistencia lateral.....	30

1.2.3.3	Resistencia cruzada.....	31
1.2.3.4	Resistencia múltiple.....	32
1.2.3.5	Reversión.....	32
1.2.3.6	Mecanismos de selección de cepas resistentes.....	33
1.2.3.7	Epidemiología de la resistencia antihelmíntica.....	34
1.2.3.8	Diagnóstico de resistencia antihelmíntica.....	35
	a) Reducción del número de huevos en heces.....	36
	b) Prueba <i>in vitro</i>	39
	c) Pruebas controladas.....	40
1.3	Justificación.....	40
1.4	Hipótesis.....	43
1.5	Objetivos.....	43
II.	MATERIAL Y MÉTODO.....	44
2.1	Parásitos.....	44
2.2	Ovinos donadores del parásito.....	45
2.3	Verificación del grado de resistencia.....	45
2.4	Obtención de larvas infestantes.....	46
2.5	Preparación de las dosis infestantes.....	47
2.6	Ovinos experimentales.....	48
	2.6.1 Infestación de los ovinos.....	49
	2.6.2 Tratamientos antihelmínticos.....	50
	2.6.3 Exámenes coproparasitoscópicos.....	50
	2.6.4 Técnicas para obtener los parámetros hemáticos.....	51
	2.6.5 Sacrificio de los ovinos experimentales.....	51
2.7	Preparación de alicuotas.....	52
	2.7.1 Recuperación de parásitos.....	52

2.7.2	Identificación y cuantificación de los parásitos	53
2.7.3	Determinación de la eficacia antihelmíntica	53
2.8	Diseño experimental	54
III.	RESULTADOS	55
3.1	Poblaciones del parásito inoculadas	55
3.1.1	<u>Haemonchus contortus</u> resistente al albendazol	55
3.1.2	<u>Haemonchus contortus</u> susceptible al albendazol	55
3.2	Inoculación de los ovinos	57
3.3	Tratamiento antihelmíntico	58
3.4	Cuantificación de huevos en heces	60
3.5	Parámetros hemáticos	61
3.6	Sacrificio de los ovinos experimentales	66
3.7	Determinación de eficacia antihelmíntica	69
IV.	DISCUSION	73
V.	CONCLUSIONES	88
VI.	BIBLIOGRAFIA	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química y núcleo común de los antihelmínticos del grupo de los bencimidazoles.....	89
Figura 2. Prueba <u>in vitro</u> aplicada a huevos de <u>Haemonchus contortus</u> resistentes al albendazol.....	90
Figura 3. Prueba <u>in vitro</u> aplicada a huevos de <u>Haemonchus contortus</u> susceptibles al albendazol.....	91
Figura 4. Huevos eliminados pre y postratamiento en las poblaciones de <u>H. contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	92
Figura 5. Valores del hematocrito en el grupo I infestado con <u>H. contortus</u> resistentes al albendazol.....	93
Figura 6. Valores del hematocrito en el grupo II infestado con <u>H. contortus</u> susceptibles al albendazol	94
Figura 7. Valores de hemoglobina en el grupo I infestado con <u>H. contortus</u> resistentes al albendazol	95
Figura 8. Valores de hemoglobina en el grupo II infestado con <u>H. contortus</u> susceptibles al albendazol	96
Figura 9. Valores de las proteínas plasmáticas en el grupo I infestado con <u>H. contortus</u> resistentes al albendazol.....	97

Figura 10. Valores de las proteínas plasmáticas en el grupo II infestado con <u>H. contortus</u> susceptibles al albendazol.....	98
Figura 11. Valores de las cuentas leucocitarias en el grupo I infestado con <u>H. contortus</u> resistentes al albendazol.....	99
Figura 12. Valores de la cuenta leucocitaria en el grupo II infestado con <u>H. contortus</u> susceptibles al albendazol	100
Figura 13. Valores de las cuentas de eritrocitos en el grupo I infestado con <u>H. contortus</u> resistentes al albendazol.....	101
Figura 14. Valores de las cuentas de eritrocitos en el grupo II infestado con <u>H. contortus</u> susceptibles al albendazol	102

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución de los ovinos experimentales en grupos y subgrupos	49
Cuadro 2. Esquema del diseño experimental	54
Cuadro 3. Resultados promedio de la prueba <u>in vitro</u> aplicada a huevos de <u>Haemonchus contortus</u> resistentes al albendazol para confirmar el índice de resistencia	56
Cuadro 4. Resultados promedio de la prueba <u>in vitro</u> aplicada a huevos de <u>Haemonchus contortus</u> de Apaseo el Alto, Gto. para determinar su susceptibilidad	57
Cuadro 5. Grupo I. Peso, dosis y producto utilizado en cada uno de los ovinos inoculados con la población de <u>Haemonchus contortus</u> resistentes al albendazol	59
Cuadro 6. Grupo II. Peso, dosis y producto utilizado en cada uno de los ovinos inoculados con la población de <u>Haemonchus contortus</u> susceptibles al albendazol	59
Cuadro 7. Promedio de eliminación de hpgH de <u>Haemonchus contortus</u> para los grupos I y II pre y postratamiento	103
Cuadro 8. Valores promedio del hematocrito (%) en ovinos infectados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	104

Cuadro 9. Valores promedio de la hemoglobina (gr/100ml) en ovinos infectados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	105
Cuadro 10. Valores promedio de proteínas plasmáticas (gr/100ml) en ovinos infectados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	106
Cuadro 11. Valores promedio de leucocitos (miles/mm ³) en ovinos infectados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	107
Cuadro 12. Valores promedio de eritrocitos (millones/mm ³) en ovinos infectados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	108
Cuadro 13. Número de parásitos adultos hembras y machos encontrados en los ovinos infestados con <u>Haemonchus contortus</u> resistentes al albendazol tratados con albendazol y netobimin	69
Cuadro 14. Promedios de parásitos adultos, desviación estandar y porcentajes de eficacia para cada uno de los subgrupos infestados con poblaciones de <u>Haemonchus contortus</u> resistentes y susceptibles al albendazol	71
Cuadro 15. Comparación de medias entre los subgrupos infestados con la población de <u>Haemonchus contortus</u> resistentes al albendazol	72
Cuadro 16. Comparación de medias entre los subgrupos infestados con la población de <u>Haemonchus contortus</u> susceptibles al albendazol	73

RESUMEN

HERAS BAROJA, FELIX RODRIGO. Eficacia del netobimin contra poblaciones de Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol (Bajo la dirección de HECTOR QUIROZ ROMERO, DAVID HERRERA RODRIGUEZ y RICARDO CAMPOS RUELAS).

Los objetivos del estudio fueron evaluar la eficacia del netobimin contra poblaciones de Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol en ovinos infestados artificialmente y comparar en los mismos las alteraciones en los parámetros hemáticos de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas, leucocitos y eritrocitos. Se utilizaron cuarenta ovinos machos de aproximadamente 8 meses de edad y un peso promedio de 25 kg, divididos en dos grupos iguales. Cada grupo fue dividido a su vez en subgrupos A, B, C, D para el grupo I, y E, F, G, H respectivamente conteniendo cinco individuos cada uno. Los ovinos del grupo I fueron infestados por vía oral con la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol dejando el subgrupo D como testigo sin inocular. Los ovinos del grupo II fueron infestados por la misma vía con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol dejando los ovinos de I subgrupo H como testigo sin inocular. Cuarenta y dos días después de la infestación fueron desparasitados los ovinos del subgrupo A y E con netobimin y B y F con albendazol, dejando los subgrupos C y G como testigos infestados sin tratamiento. Las dosis utilizadas fueron 7.5 mg/kg de peso para el

netobimin y 3.8 mg/kg de peso para el albendazol. El experimento obedeció estadísticamente a un diseño en bloques al azar. Los subgrupos A y E mostraron una eficacia del netobimin contra gusanos adultos de 77.4% y 100% respectivamente. La eficacia del albendazol para los subgrupos B y F fue en este orden de 76.6% y 97.8%. Estos porcentajes de eficacia indican en el grupo I la presencia de resistencia cruzada hacia el netobimin. En el grupo II, la actividad del netobimin sobre las fases adultas fue 100% efectivo. La reducción de huevos por gramo de heces después del tratamiento con netobimin fue en los subgrupos A y E del 98.2% y 100%. En los subgrupos B y F tratados con albendazol, la reducción fue de 93.8% y 100% respectivamente. El estudio sanguíneo reveló diferencias estadísticas significativas en los parámetros de hematocrito, hemoglobina y eritrocitos entre los subgrupos A, B, y C con respecto al subgrupo testigo D. Las proteínas plasmáticas y leucocitos presentaron estadísticamente por lo menos una relación significativa en comparación con el testigo. Se concluye que el netobimin a dosis de 7.5 mg/kg de peso no fue efectivo contra poblaciones de Haemonchus contortus resistentes al albendazol. Así mismo los parámetros hemáticos en los ovinos infestados con la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol fueron afectados estadísticamente al ser comparados con el subgrupo testigo. Sin embargo, esta diferencia no es clínicamente relevante puesto que los valores no rebasaron los límites inferiores normales.

I. INTRODUCCION

1.1 Presentación del problema

Ningún ser vivo animal o vegetal, vive aislado en el ambiente en que habita, consecuentemente, el hombre se encuentra colocado en medio de una gran trama de factores que, en mayor o menor medida gravitan sobre su bienestar.

Los grandes desplazamientos de población, tanto de las zonas basicamente rurales, a las grandes ciudades y centros urbanos en proceso de desarrollo, provocan entre otras cosas, desequilibrios socioeconómicos y deterioro de las condiciones de vida. Sin embargo, el hombre, gracias al desarrollo de su cultura y la acumulación del conocimiento, es capaz de modificar el medio, buscando en el complejo contacto dinámico del hombre con la naturaleza, las explicaciones y causas que determinan su momento histórico.

Bajo estas condiciones se hace necesario buscar mecanismos eficientes que permitan llevar a los centros de abasto, alimentos de origen vegetal y animal de buena calidad, lo que se hace cada vez más difícil, por la gran complejidad que implica producir a gran escala y teniendo en cuenta la diversidad de microorganismos patógenos que merman la salud del hombre y la producción agropecuaria.

En los animales domésticos, las bacterias, virus, hongos, rickettsias, protozoarios y metazoarios son directamente

importantes en la ocurrencia de enfermedad, propiedad que les permite perpetuarse como especie, en combinación con el hospedero más adecuado. Dentro de esta gama de microorganismos, los parásitos gastroentéricos, constituyen en los animales domésticos, una de las causas que impiden alcanzar óptimos niveles de producción pecuaria, que se requieren para abastecer en forma adecuada a la población humana.

Entre la amplia variedad de parásitos que se encuentran involucrados en este proceso, Haemonchus contortus reviste especial importancia. La severidad con que actúa, debido a sus hábitos hematófagos, lo convierten en uno de los nematodos con mayor grado de patogenicidad, sobre todo para los ovinos, especie que presenta mayor susceptibilidad al ataque y que provoca en ellos un síndrome que puede ser de evolución aguda o crónica, ambas con deterioro marcado en la condición de los individuos. Este hecho trae como consecuencia pérdidas económicas importantes para los productores (9,51).

Para contrarrestar la acción del agente patógeno se emplean sustancias conocidas como antihelmínticos, que se clasifican básicamente en: a) fenotiacinas; b) organofosforados; c) nitrofenoles y salicilanidas; d) bencimidazoles y probencimidazoles; e) imidazotiasoles y f) avermectinas. Cada uno de estos grupos poseen principios químicos y modo de acción diferente (51).

Como una consecuencia del uso de los antihelmínticos, se ha establecido en los nematodos un mecanismo de selección de

individuos con capacidad biológica que les permite eludir su efecto, reconociéndose este fenómeno como resistencia antihelmíntica. Esta capacidad de resistencia es una manifestación genética que permite incrementar la frecuencia de individuos resistentes, conforme los nematodos tienen contacto con los antihelmínticos, aumentando así su número en las generaciones subsiguientes (51).

Haemonchus contortus cuenta con la capacidad de eludir fácilmente el efecto antihelmíntico, sobre todo para los compuestos del grupo de los bencimidazoles (51). Se ha detectado el indeseable efecto de resistencia antihelmíntica en Australia, América del Sur, África del Sur, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Canadá y Malasia (53). En México, la resistencia ha sido señalada en ovinos y actualmente se encuentra en fase de evaluación. (15,16).

La necesidad de contar con nuevas alternativas para el control de poblaciones de H. contortus resistentes a los bencimidazoles, ha motivado a investigadores de varios países, de buscar nuevos compuestos. El netobimin, producto de reciente introducción en el mercado, perteneciente al grupo de los probencimidazoles, ofrece ser una alternativa, por lo que se plantea como problema a investigar en el presente trabajo, su evaluación contra poblaciones de H. contortus susceptibles y resistentes al albendazol aisladas en México.

1.2 Revisión de literatura

1.2.1 Haemonchus contortus y la hemoncosis en ovinos

La hemoncosis en ovinos es causada por Haemonchus contortus (Rudolphi, 1893), verme cilíndrico que se localiza en la mucosa y contenido abomasal, además se encuentra en caprinos, bovinos y otros ruminantes silvestres a nivel mundial (55, 84).

Taxonomicamente este parásito se clasifica en:

Phylum	Nemathelminthes	
Clase	Nematoda	
Subclase	Secernentea	
Orden	Strongylida	
Superfamilia	Trichostrongyloidea	
Familia	Trichostrongylidae	
Género	<u>Haemonchus</u>	
Especie	<u>H. contortus</u>	(84,93)

Las hembras miden de 18 a 30 mm de longitud y de 0.4 a 0.5 mm de diámetro, el macho mide de 10 a 20 mm de longitud y de 0.10 a 0,15 mm de diámetro. La sangre contenida dentro del tubo digestivo les confiere una coloración roja uniforme, además, en la hembra los ovarios blancos enrollados, envuelven en espiral al intestino, por lo que comunmente se le denomina como "palo de barbería" (84, 93).

Los adultos, la larva cuatro (L4) y larva cinco (L5), presentan

en la cavidad bucal una pequeña lanceta dorsal transparente, importante en la succión de sangre. En los adultos, se pueden distinguir en la región cefálica, dos papilas cervicales prominentes y espiniformes con dirección antero-posterior (55, 84).

EL macho en su porción caudal presenta la bursa copulatrix con dos grandes lóbulos laterales sostenidos por rayos largos y finos y un lóbulo dorsal pequeño y asimétrico, desviado hacia el lóbulo lateral izquierdo, que es sostenido por el rayo dorsal en forma de Y invertida. Las espículas en el macho presentan una longitud de 0.46 a 0.50 mm. La hembra de H. contortus no presenta ninguna estructura particular en la extremidad posterior, excepto la lengüeta supravulvar elongada, que en algunos casos puede ser prominente y en otros en forma de un pequeño botón, además del orificio anal (84, 93).

Los huevos eliminados con las heces contienen un embrión al que se le pueden contar de 16 a 32 células. El tamaño de los huevos es de 70 a 85 μm por 41 a 48 μm (84).

Haemonchus contortus presenta un ciclo directo, se divide en una fase de vida libre y otra parásita en el interior del hospedero. En el abomaso de los rumiantes los parásitos adultos machos y hembras, copulan, pudiendo eliminar las hembras hasta 20,000 huevos por día, junto con las heces. Como todos los nematodos, este género sufre cuatro mudas en el curso de su vida (93).

Durante la fase de vida libre en el medio ambiente, los huevos

desarrollan en su interior la larva uno (L1), que eclosiona entre las 24 y 30 horas, dependiendo en ese momento de la temperatura y humedad ambiental. Al completar su desarrollo, la L1 muda por vez primera para transformarse en larva dos (L2), aproximadamente a las 7 horas y a larva tres (L3) entre los 4 y 7 días, no sin antes desprenderse nuevamente de su cubierta. Sin embargo después de esta segunda muda, la envoltura no se desecha, permanece cubriendo la L3, la cual no se alimenta, vive de las reservas de las fases anteriores alimentadas básicamente de bacterias. La temperatura menor a los 9° C suspende el desarrollo larvario y por encima lo retarda. Las larvas L1 y L2 no pueden por sí mismas infestar un nuevo hospedero, son destruidas por las condiciones de acidez ruminal cuando son ingeridas (55, 84).

La fase parásita se inicia cuando la L3, larva infestante, es capaz de subir a los pastos y ser ingerida por el hospedero. En el rumen, la larva infestante (L3) se libera de la envoltura que la protege, por acción de la enzima leucin-amino-peptidasa, e inicia en el abomaso su fase tisular o histotrópica. Esta consiste en penetrar las foveolas de las glándulas gástricas, se alimenta y crece, para evolucionar en larva cuatro (L4). La larva tres puede resistir por tiempo prolongado condiciones ambientales desfavorables, gracias a su envoltura, capacidad ausente en las larvas uno y dos, que son destruidas por desecación, bajas temperaturas y competencia de los microorganismos con que se nutren (55,84).

Una última muda de la epidermis se realiza en la L4, después

de abandonar la mucosa del abomaso, dando lugar a la larva cinco (L5), que es hematófaga al igual que el estadio anterior (55, 93).

La transformación de L5 en adulto se lleva a cabo sin mudas extras y se requiere para todo el proceso entre 14 y 21 días, conociéndose a este periodo como prepatente, tiempo necesario para la madurez de sus órganos genitales (55,93).

De los trastornos causados por Haemonchus contortus, la anemia es la principal característica de la infestación. La L4 y L5 ocasionan inflamación, irritación y lesiones hemorrágicas y ulcerativas en la mucosa abomasal. Los gusanos adultos producen lesiones severas por medio de sus lancetas orales, que perforan la mucosa del abomaso. Se estima que una hembra adulta succiona al día aproximadamente 0.05 ml de sangre (55, 76, 84, 93).

Se ha demostrado experimentalmente que la hemoncosis se desarrolla en tres fases; la primera dura tres semanas y corresponde a la transformación de las L3 (larva infestante) en adultos, observándose un decremento progresivo del hematocrito de un 10% hasta un 40%, aun en ausencia de huevos en la materia fecal. La disminución del hematocrito se debe al tiempo que tarda el sistema eritropoyético en compensar la pérdida de sangre. La segunda fase dura de 6 a 14 semanas y se caracteriza por un valor estable del hematocrito y por un fuerte estímulo al sistema hematopoyético del hospedero. En este período se presenta un incremento del hierro plasmático, descenso del hierro en las heces, e incapacidad de reabsorción a nivel intestinal. En este estadio los huevos del

parásito son abundantes en las heces. La tercera y última fase corresponde al agotamiento del sistema hematopoyético y al descenso en el porcentaje del hierro plasmático, como precedente a la muerte (55, 76, 84, 93).

A través de estas fases Haemonchus contortus extrae sangre y ocasiona hemorragias, provocando anemia severa como síntoma distintivo de la infestación. Estudios de la dinámica sanguínea por medio de radio isótopos mostraron que las pérdidas de eritrocitos en los inicios de la infestación son inapreciables, sin embargo en períodos prepatentes largos las pérdidas de estas células son dignas de considerarse (2).

Se menciona que en animales con hemoncosis aguda, existe una rápida declinación de los valores del volumen celular sanguíneo, anemia normocítica y normocrómica de graves consecuencias, acompañada de hipoproteinemia (70). La forma crónica afecta esencialmente a los animales adultos, en los que el efecto se manifiesta por una anemia moderada, asociada a pérdida de peso, más no necesariamente produce la muerte (93).

Los signos clínicos pueden presentarse de tres maneras, dependiendo del grado de infestación. La presentación explosiva es poco común, sin embargo se puede presentar en animales jóvenes muy susceptibles. El desarrollo de la anemia es repentina provocando la muerte súbita durante el período prepatente. Las heces son de color oscuro. En los casos agudos con infestaciones intensas, los animales jóvenes muestran además de la anemia, edema submaxilar.

En los cadáveres se pueden encontrar de 1,000 a 10,000 parásitos en el abomaso, observándose edema generalizado. La presentación crónica representa economicamente mayor importancia, aun cuando se da con un número bajo de parásitos (entre 100 y 1,000). Los animales afectados muestran debilidad, emaciación, agotamiento, pérdida de peso, palidez de las mucosas. En los ovinos puede haber caída de lana, edema submaxilar y diarrea. Por lo regular la mortalidad es baja, no así la morbilidad que es del 100% (55, 84, 93).

La lesiones dependen del grado de la infestación, pero generalmente la piel, los órganos internos y las mucosas se encuentran pálidas. Los cadáveres son caquéticos, hay hidrotorax, ascitis, líquido en el pericardio, degeneración grasa y la sangre que contiene es de apariencia acuosa. En el abomaso el contenido es de color rojo oscuro, con una gran cantidad de gusanos. La mucosa presenta inflamación y marcas producidas por las mordeduras (55, 84).

EL diagnóstico se realiza principalmente por las manifestaciones clínicas de los animales, no obstante estos signos y síntomas, no son específicos de la hemoncosis, en vista que otras entidades patológicas, bacterianas, virales nutricionales, etc., también los presentan. El auxilio del laboratorio es fundamental para realizar conteo de huevos por gramo de heces (hpg), cultivo de los mismos para el desarrollo larvario, que pone de manifiesto las características morfométricas, y facilita la identificación del

género y especie involucrados. Es posible dar un diagnóstico definitivo y válido, solamente al realizar la necropsia de un animal representativo de la población afectada (13, 84) .

La manifestación más clara de la respuesta inmunológica en infestaciones con Haemonchus contortus es la reacción de autocura, provocada en rebaños ovinos, por dosis adecuadas y repetidas de larvas infestantes. Es necesario infestar a los animales más de una vez, para inducir la reacción. Esta se logra infestando los ovinos por vía oral con larvas tres, o mediante inyección directa al abomaso, con larvas infestantes del tercer estadio, pero sin vaina. Existe una relación directa entre el inicio de la muda del cuarto estadio, con la reacción de autocura. Paralelamente se observa una elevación transitoria de histamina hemática e incremento en el título de anticuerpos fijadores del complemento (84). En infestaciones experimentales con H. contortus, los ovinos presentan edema, cambios histológicos en el abomaso, incremento de mastócitos, leucócitos, eosinófilos y células productoras de moco (79).

Desde el punto de vista genético, la raza, en los ovinos, tiene una influencia mayor en el establecimiento de infestaciones por Haemonchus contortus. Los corderos de la raza Navaho son más susceptibles que razas como Suffolk, Rambouillet, Targhee y Corriedale. Sin embargo, existen razas nativas ovinas y de cabras, que superan con facilidad el ataque parasitario. La resistencia mostrada por los ovinos originarios de algún país, puede ser el resultado de una selección genética natural en un ambiente

endémico. Los fenótipos de hemoglobina en una misma raza, tienen menor influencia en la susceptibilidad a Haemonchus contortus, que el factor raza. Los ovinos homocigóticos para la hemoglobina tipo A, muestran menor carga parasitaria y menores manifestaciones a la infestación, que los animales homocigóticos para hemoglobina tipo B. La manifestación genética evita el establecimiento de los gusanos, por medio de mecanismos inmunológicos (3, 4, 84).

Los principales factores epidemiológicos que afectan al desarrollo y viabilidad de huevos y larvas de los tricostrongilidos en general, son la temperatura y la humedad. Haemonchus contortus es capaz de sobrevivir en climas cálidos, siendo el tercer estadio el menos susceptible a las condiciones ambientales adversas. En este orden, le siguen los huevos embrionados, no embrionados, la larva L1 y la larva L2. Las fases de vida libre son destruidas por calor excesivo, desecación y frío, o bien por las fluctuaciones de los mismos. La temperatura óptima para el desarrollo de larvas de H. contortus oscila entre 20 y 35 C, mientras que la humedad relativa debe ser del 100% (84, 93, 95).

Existe una alta correlación entre la supervivencia y la migración larvaria, con respecto a la humedad y temperatura. Sin embargo, la humedad afecta en mayor grado la movilidad y migración de las larvas infestantes. El movimiento larvario en busca de un hospedero apropiado puede ser en un radio de hasta 40 cm. Esto se logra gracias al viento y la lluvia (84, 93, 95).

Existen evidencias que indican la inhibición o detenimiento

temporal del desarrollo parasitario, en el momento exacto del empeoramiento de las condiciones ambientales, es decir, cuando las condiciones son adversas para la supervivencia de las fases de vida libre, se produce en el interior del hospedero este fenómeno el cual se denomina hipobiosis. Además de los factores ambientales de tipo estacional o espontáneo, los del propio hospedador influyen en la presentación de la hipobiosis. Este proceso de detención no es permanente, se reanuda cuando las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de las fases libres (84).

1.2.2 Antihelmínticos más usados en el control de la hemoncosis ovina.

En base a los efectos causados por las parasitosis gastroentéricas, se hizo necesario emplear terapias a base de compuestos químicos diferentes, iniciándose con ello la historia moderna de los antihelmínticos a partir de los años veintes. En esa época el sulfato de cobre y el tetracloruro de carbono fueron altamente efectivos en el control de las hemoncosis. A continuación, se presentan los principales grupos antihelmínticos (Fenotiacinas, Organofosforados, Bencimidazoles, Imidazotiazoles, Probencimidazoles y Avermectinas) utilizados en el tratamiento y control de los más importantes nematodos de los rumiantes (36, 51).

1.2.2.1 Fenotiacinas

Este producto aparece en los años treinta, marcando el hecho por ser el primer antihelmíntico de amplio espectro utilizado en el control de nematodos gastroentéricos en rumiantes. La fenotiacina fue evaluada en su tiempo, de acuerdo al grado de pureza y al tamaño de las partículas, factores determinantes en la eficacia del antihelmíntico. Las concentraciones de fenotiacina evaluadas han sido al 85% de pureza y fenotiacina purificada al 99% (85).

Se ha observado en ovinos infestados naturalmente con nematodos gastroentéricos, que existen una correlación positiva entre el tamaño de las partículas de la fenotiacina y la eficacia antihelmíntica. Los resultados sugieren que la preparación terapéutica más efectiva debe contener partículas menores de 20 mm de diámetro (28, 38). Partículas entre 1 y 2 mm en promedio producen una efectividad del 95%, sobre nematodos gastroentéricos en ovinos infestados de manera natural (28, 84).

1.2.2.2 Organofosforados

Estos compuestos hacen su aparición en los años cincuentas (51), usándose generalmente como pesticidas de aplicación externa, posteriormente se usaron como antihelmínticos (68). Los organofosforados de uso antihelmíntico en rumiantes son:

a) Haloxón. Este producto fue altamente efectivo,

principalmente contra nematodos gastroentéricos de abomaso e intestino delgado a dosis de 35-55 mg/kg de peso vivo, mientras que la eficacia en intestino grueso ha sido muy limitada (68). La eficacia de haloxon contra Haemonchus contortus, Ostertagia ostertagi y Trichostrongylus axei en el abomaso fue de 90% a 100%, cuando se administró el producto a dosis de 50 mg/kg de peso vivo, en rumiantes infestados naturalmente (6). La dosis recomendada para este producto es de 37 a 64 mg/kg de peso para el tratamiento de nematodos gastroentéricos de rumiantes en general (84).

b) Coumaphos, se usa como aditivo, recubriendo los granos o pellets de alimentos del ganado a dosis de 2 mg/kg/día. Su efectividad se manifiesta contra Haemonchus, Ostertagia, Trichostrongylus y Cooperia (17, 84,100).

c) Naphthalophos, antihelmintico específico de espectro reducido, presenta reducida eficacia contra parásitos del intestino grueso (68). Este producto organofosforado presenta actividad contra Haemonchus contortus y Trichostrongylus colubriformis a dosis de 17-47 mg/kg (84). En ganado bovino infestado de manera natural con nematodos gastroentéricos, se observó una reducción en el conteo de huevos de 91% a 98% a dosis de naphthalophos de 50 a 75 mg/kg de peso respectivamente, siete días después del tratamiento (21). En infestaciones artificiales con nematodos gastroentéricos, la eficacia de esta droga específicamente contra Haemonchus contortus fue de 99% (101).

1.2.2.3 Bencimidazoles

Los bencimidazoles en ovinos se utilizan a partir de 1961 con el uso del tiabendazol, posteriormente otros derivados de este mismo grupo fueron apareciendo. Prichard y colaboradores en 1980 (75), integraron en este especie el uso de los bencimidazoles, como el tiabendazol (TBZ), parabendazol (PBZ), cambendazol (CBZ), mebendazol (MBZ), oxibendazol (OBZ), fenbendazol (FBZ), oxfenbendazol (OFZ) y albendazol (ABZ). La mayoría de los bencimidazoles afectan a nematodos gastroentéricos y pulmonares, además de Fasciola hepática y cestodos.

Tomando en cuenta los efectos nocivos que pueden provocar las asociaciones parasitarias en los animales domésticos, los productores se han visto obligados a ampliar la utilización de los bencimidazoles en sus rebaños (38, 75).

a) Tiabendazol

La estructura química de tiabendazol es (2-(4-diazolil) bencimidazol) (figura 1). Aparece por primera vez en el mercado en 1961 (10), como un producto capaz de actuar contra fases inmaduras, así como contra los estados adultos de nematodos gastrointestinales de todas las especies domésticas. La eficacia del tiabendazol observada por Brown y colaboradores contra el género Haemonchus contortus fue del 95% (84). Presenta un amplio margen

de seguridad, cuando se administra por vía oral en dosis de 44 mg/kg en los ovinos y 66 mg/kg en el ganado bovino (84).

b) Parbendazol

Fue el segundo bencimidazol en aparecer, su estructura química (Metil 5 (6)-butil-2-bencimidazol carbamato) (figura 1), parte al igual que todos los bencimidazoles, de un núcleo común. Al ser evaluado contra nematodos gastroentéricos, se puede observar que una sola aplicación por vía oral o intramuscular de 15 mg/kg de peso mostró una eficacia entre el 95% y 100%, sobre el género Haemonchus (1).

c) Cambendazol

Su fórmula (Isopropil-(4-tiasolil)-5-bencimidazol carbamato) (figura 1), integrante del grupo de los bencimidazoles, compuesto III con radical $\text{NHCO}_2 \text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, administrado a ovinos a dosis de 5-15 mg/kg de peso, con mayor potencia que el tiabendazol, actúa eficazmente contra adultos y fases inmaduras de Haemonchus contortus (45).

d) Mebendazol

Contra nematodos gastrointestinales tanto de fases juveniles

como de gusanos adultos, el producto (5-benzoi-2-benzimidazole carbamato de metilo) (figura 1), es moderadamente efectivo a dosis de 15 mg/kg de peso. Este producto manifiesta mayor actividad sobre la carga de huevos eliminados en heces, que en contra de formas adultas (84).

e) Fenbendazol

El (metil 5-(feniltio)-2-bencimidazol carbamato) (figura 1), descubierto en 1974 (5) ha mostrado ser eficaz contra huevos, fases inmaduras y adultos de nematodos gastroentéricos a dosis de 5 mg/kg de peso en ovinos. Tiene la característica de ser ovicida, eliminando los huevos del intestino durante el tiempo de administración del producto. Por poseer un amplio espectro de actividad, la dosis de 7.5 mg/kg de peso provoca una efectividad del 95% al 100% sobre adultos y formas inmaduras de Haemonchus, Cooperia y Ostertagia, así como contra Nematodirus y Oesophagostomum (76).

f) Oxfendazol

Antihelmíntico de amplio espectro con acción ovicida, aparece en 1975. Su fórmula química (Metil 5-(6)-fenilsulfonil)-2-bencimidazol carbamato) (figura 1) (35), es muy eficaz a dosis de 5 mg/kg contra fases maduras e inmaduras de nematodos

gastroentéricos (84). Con la dosis mencionada afecta en un 99 a 100% al género Haemonchus (64,76).

g) Albendazol

El bencimidazol (Metil (5-(propitio)-III-bencimidazol-2-carbamato) (figura 1) de más reciente descubrimiento en 1976 (88), ha sido evaluado en ovinos infestados en forma natural y artificial, provocando en esta especie del 94% al 100% de eficacia contra Haemonchus contortus, además de ser eficaz contra otros nematodos gastroentéricos (7, 20, 52) y en otras especies domésticas (82).

h) Mecanismo de acción

Los compuestos anteriores son derivados bencimidazoles, por lo cual su estructura química, parte de un mismo núcleo (figura 1). Sin embargo existe cierta variación en su eficacia, aun teniendo un modo de acción similar (67).

Los bencimidazoles actúan modificando el metabolismo energético de los helmintos, destruyen la estructura microtubular de su epitelio intestinal, inhibiendo la toma de glicógeno del intestino de los parásitos, por inhibición de la enzima fumarato reductasa, o por ambos procedimientos. No en todos los casos, ni en todos los nematodos se ven agotadas las reservas de glicógeno. Además de los efectos anteriores, estos productos bencimidazoles inhiben también

la mitosis celular, el desajuste en el acoplamiento de las mitocondrias y estimulan la secreción de la acetil colinesterasa. Así mismo, los bencimidazoles evitan la polimerización de la alfa y beta tubulina, importantes en la formación de los microtúbulos. A su vez estos microtúbulos son parte esencial de la estructura celular y sobre todo para la división mitótica, formando parte del uso. Bioquímicamente los microtúbulos se caracterizan por poseer un centro de unión de moléculas de colchicina, evitando así la formación de las subunidades protéicas antes mencionadas (25, 32).

Por otro lado, el tiempo de exposición de la droga con el parásito es importante en la determinación de su actividad. De tal manera que dosis divididas son más efectivas que una sola dosis. También el tiabendazol puede mostrar ser efectivo contra estados larvarios si se aplica por periodos recomendados por el fabricante (63). En general, los bencimidazoles son más efectivos en rumiantes cuando, presumiblemente el rumen sirve para mantener la droga por un periodo más largo de tiempo (63). En Haemonchus contortus se inhibe la presencia de fumarato reductasa, cuando estos parásitos tienen contacto con tiabendazol, más no presentan este efecto con mebendazol. La inhibición de esta enzima se ve afectada en mayor proporción (20-40%) por cambendazol, cuando Haemonchus contortus es resistente a los bencimidazoles (75,88). Poblaciones de Haemonchus contortus, resistentes al albendazol y al tiabendazol, no presentan ninguna alteración en la producción y actividad de fumarato reductasa (65,89). El etanol que normalmente actúa manteniendo la energía en los parásitos, no interviene en la

actividad de fumarato reductasa, sin embargo se duplica en presencia de algunos bencimidazoles (75,99).

1.2.2.4 Imidazotiasoles

El descubrimiento del tetramisol es notificado en 1966 por Thienpont (90), considerándose a partir de entonces, uno de los mejores antihelmínticos de nuestra época. En esa publicación se habla del amplio espectro demostrado, contra una amplia variedad de gusanos susceptibles. El tetramisol, es una mezcla racémica del R y S-2,3,5,6-tetrahidro-6-fenilimidazol (2, l-b) tiazol (90).

Los isómeros del tetramisol fueron probados separadamente, observándose una mayor efectividad por parte del isómero S, al cual se le llamó levamisol (61). Su actividad antihelmíntica a dosis de 7.5 mg/kg de peso, abarca nematodos del tracto gastroentérico como Haemonchus, así como vermes pulmonares de ovinos y caprinos.

El mecanismo de acción del levamisol es directamente sobre el sistema nervioso del parásito, y actúa específicamente sobre los ganglios nerviosos, ocasionando parálisis de este (5). En cabras, una sobredosis del producto por vía subcutánea, puede producir síntomas de intoxicación, reduciendo así el margen de seguridad (84).

1.2.2.5 Probencimidazoles

Son componentes de este grupo el febantel (FB), tiofonato (TF) y netobimin (NTB). *In vivo* son metabolizados, comportándose como

los bencimidazoles.

a) Febantel

Es efectivo contra fases maduras e inmaduras de nematodos gastroentéricos y helmintos pulmonares como Dictyocaulus. La dosis adecuada es de 5-7.5 mg/kg de peso. En el organismo es convertido a bencimidazol metil carbamato (84).

b) Tiofonato

Antihelmíntico de amplio espectro que *in vivo* se transforma en bencimidazol etil-carbamato. Pueden aplicarse dosis de 50-100 mg/kg de peso para el control de nematodos gastrointestinales, y de 1-10 mg/kg de peso en dosis diarias para reducir la eliminación de huevos y la carga parasitaria (33, 72).

c) Netobimin

El uso de productos químicos contra nematodos se ha desarrollado extraordinariamente, los antihelmínticos son cada vez más efectivos y con menos efectos indeseables, sin embargo, a través del tiempo y el uso continuo, las poblaciones se manifiestan con algún grado de resistencia. En consecuencia, los grandes laboratorios han tomado en cuenta esta respuesta, produciendo en

base a investigaciones, nuevos productos que sirvan como alternativa en el tratamiento de las helmintiasis.

1. Características y antecedentes

Es un polvo amarillo de olor característico, con peso molecular de 420.5, insoluble en agua, ligeramente soluble en alcohol y soluble en bases orgánicas. Las vías para su aplicación son la oral y parenteral¹. Este producto relativamente nuevo ha sido reportado y evaluado a partir de 1983^{2 3 4 5 6}(29,44,80,98). Comercialmente se le conoce como Totabim, Hapadex, Sch-32481 o por su nombre genérico de ácido etil-sulfónico-2 (metoxicarbonilamino) 2-nitro-5 (n-propiltico) fenilamino-metilamino (86)⁷.

El netobimin tiene la característica de que se convierte en albendazol o sulfóxido de albendazol, durante el proceso metabólico en el animal⁸.

¹Bogan, J. : Summary of work on action of Sch 32481. Sch 32481 Oral-Copy 1-Book 1 of 5. Schering Corporations: 19-20 (1983).

²Bogan, J. : Summary of work on action of Sch 32481. Sch 32481 Oral Copy 1-Book 1 of 5. Schering Corporations: 19-20 (1983).

³Duncan, J.L., Schum, K.L.: Oral dose titration study of Sch 32481 in lambs. Report. Tec. A-17070. Sch 32481 Oral Copy 1- Book 5 of 5. Schering Corporations. (1983).

⁴Rushton, B.R.: Sch 32481: Efficacy study in sheep against *Fasciola Hepatica*. Report. 2670 Sch 32481. Copy 1, Book 5 of 5. Schering Corp. U.S.A. (1983).

⁵Santiago, M.: Efficacy study of Sch 32481, injectable against adults helminths of calves. Reports. A-17162. Sch 32481 Inj. Copy-2 Book 4 of 4. Schering Corp. U.S.A. (1983).

⁶Valnoski, M., Kupiec, D., Guito, K., Shum, K.: Oral dose titration study of Sch 32481 N-methyl glucamine against *Fasciola hepatica* (sheep liver fluke) in sheep. Report. A-16360. Sch 32481 Oral- Copy 1- Book 5 of 5. Schering corporation U.S.A. (1982).

⁷Bogan, J.: Op. Cit.

⁸Idem.

Una dosis subcutánea de 150 mg de netobimin marcado con C14 y aplicado en ratas, se absorbe rápidamente. La excreción se lleva a cabo por la orina en un 60% y por las heces el 37%, durante un período de siete días. También se señala que el nivel máximo en el plasma de ratas, se presenta 30 minutos después de una dosis de 150 mg aplicada en dosis única. Las concentraciones en hígado y riñón son casi iguales 240 horas después de su aplicación. Entre las 96 y 240 horas, las concentraciones promedio son mayores en riñón que en hígado. Después de 240 horas de la administración, la concentración promedio en riñón e hígado es de 1.38 y 1.01 mg de netobimin respectivamente. Al dosificar en perros 1150 mg/kg de peso por vía intramuscular, se excreta por heces al 68% y por orina el 22%, después de 120 horas de su administración ^{9, 10}.

En los ovinos este producto administrado a dosis de 2.5, 5.0, 7.5 y 10 mg/kg de peso corporal, elimina del 94% al 100% de huevos y larvas, en animales naturalmente infestados ^{11, 12}.

La dosis de netobimin por vía oral, con mayor efectividad, en corderos de tres meses de edad, es de 7.5 mg/kg de peso. El uso de

⁹ Cameron, B.: Metabolism and pharmacokinetics of C¹⁴ Sch32481 in the dogs. Reporte técnico (A-17555) Schering Corporations. (1984).

¹⁰ Palmer, K. : Determination of the excretion pathway of 14C-Sch 32481, following subcutaneous administration of 14C Sch 32481 tris to male rats. Report, A-17461. Sch 32481 Inj. Copy 2-Book 1 of 4, Schering Corp. U.S.A. (1983).

¹¹ Valnoski, M.J., Shum K.L.: Ovicidal effects of Sch 32481 against ovine strongylid parasites *in vivo* and *in vitro*. Report, A-16749, Sch 32481 Oral. Copy 1- Book 5 of 5, Schering Corp. U.S.A. (1983).

¹² Valnoski, M., Kupiec, D., Guito, K., Shum, K.: Oral dose titration study of Sch 32481 N-methyl glucamine against *Fasciola hepatica* (sheep liver fluke) in sheep. Report, A-16360, Sch 32481 Oral. Copy 1- Book 5 of 5, Schering corporation U.S.A. (1982).

este producto elimina el 100% de adultos del género H. contortus. Esta misma dosis resulta ser eficaz contra otros nematodos económicamente importantes ¹³.

Se señala que el netobimin tiene efecto ovicida y larvicida en nematodos gastroentéricos, provocando el 99% y 100% de efectividad, sobre todo a dosis de 7.5 y 10 mg/kg ¹⁴.

Se ha determinado la dosis efectiva mínima del netobimin por vía oral en corderos infestados experimentalmente con H. contortus. La dosis de 7.5 mg/kg de peso demostró ser la más efectiva, provocando una reducción del 99% ¹⁵.

En un trabajo comparativo en ovinos, el netobimin provocó 95% de reducción de huevos de nematodos gastroentéricos a dosis de 7,5 mg/kg de peso (77).

2. Mecanismo de acción

Este compuesto inhibe la unión de la alfa y beta tubulina que impide la formación de los microtúbulos, estructuras indispensables en el mantenimiento, nutrición y movimiento de los parásitos, división celular y en general para la mayoría de las funciones y actividades celulares (32). Durante este proceso se ven afectados

¹³Schuette, M.K.: Parenteral dose titration study in calves using Sch 32481 tris. Report A-16585, Sch 32481 Inj. Copy 2, Book 4 of 4, Schering Corp. U.S.A. (1983).

¹⁴ Valnoski, M.J., Shum K.L.: Op. Cit.

¹⁵ Schuette, M.K.: Op. Cit.

los centros específicos de unión, en los dímeros, para el acoplamiento de los nucleótidos difosfato y trifosfato de guanosina, fuentes de energía necesarias para el ensamblaje de las microestructuras (32).

3. Toxicidad

Toxicológicamente, el netobimín ha sido evaluado, observando en ratones la presentación de convulsiones clónicas a dosis de 257 mg/kg de peso. En ratas machos la dosis letal (DL50) es de 768 mg/kg de peso, mientras la dosis subletal es de 544 mg/kg de peso. En ratas hembras la dosis letal es de 659 mg/kg de peso, presentando hipoactividad, orina color amarillo brillante, edema, decoloración y formación de costra en la zona de aplicación ¹⁶.

1.2.2.6 Avermectinas

Las avermectinas son el resultado de la fermentación del actinomiceto NRRL-8165, Streptomyces avermectilis (Hotson), aislado en el Instituto Kitasato en Japón, a partir de una muestra de suelo (11). Son una serie de derivados macrocíclicos lactonados y contienen cuatro componentes mayores: A1a, A2a, B1a y B2a, además de cuatro componentes menores: A1b, A2b, B1b y B2b, que son

¹⁶ Schwartz, : Acute oral (Rats, mice and dogs) and intravenous (rats and mice) toxicity studies of Sch 32481 NMG. Report, P-4858, Sch 32481 oral- Copy 1-Book 3 of 5, Schering Corp. U.S.A. (1982).

homólogos de los correspondientes componentes mayores (11). Los antihelmínticos pertenecientes a este grupo son los de más reciente aparición en el mercado y su valor radica en la efectividad que presentan en contra de un amplio espectro de parásitos internos y externos de ovinos, caprinos, bovinos, cerdos, equinos y perros (11).

El mecanismo de acción de las avermectinas en los nematodos, se realiza produciendo parálisis de los gusanos por medio del ácido gamma amino butírico (GABA), sustancia inhibidora de la transmisión nerviosa entre las interneuronas y las motoneuronas (11,34).

1.2.3 Presentación de resistencia antihelmíntica

En forma paralela al uso de productos antihelmínticos, se ha manifestado un rápido incremento en la selección de individuos que no se ven afectados por estos, a lo cual se le ha denominado resistencia antihelmíntica.

1.2.3.1 Definición

Se menciona a la resistencia como el incremento significativo en la habilidad de algunos individuos de tolerar dosis de un compuesto que es letal para la mayoría de los integrantes de la población normal. Esta condición se presenta de tres maneras diferentes; resistencia lateral, cruzada y múltiple (51,75).

La resistencia antihelmíntica ha sido comunicada en una amplia variedad de nematodos. H. contortus, Trichostrongylus spp., Ostertagia spp y pequeños estróngilos de los equinos. Se ha mostrado su participación tanto en condiciones de laboratorio como de campo (84).

El primer reporte de resistencia lo realiza Drudge y colaboradores en 1957 (30). El trabajo consistió en infestar ovinos, con nematodos que no habían tenido contacto anterior con la fenotiacina (cepa A), así como aquellos que ya lo habían tenido (cepa B), administrándoles posteriormente pequeñas dosis diarias de la droga. En los ovinos infestados con la cepa A y tratados con 0.5 gr de fenotiacina, disminuyó el número de huevos eliminados en heces, inhibiéndose el desarrollo larvario en un 65%, mientras que con la cepa B fue necesario emplear de 1 a 2 gr del mismo fármaco para provocar los mismos efectos. Los autores concluyeron que el uso prolongado de la fenotiacina da por resultado la selección de cepas tolerantes a la misma (30). Tres años después de la aparición del tiabendazol se comunicó la existencia de resistencia hacia él. A partir de entonces se ha demostrado la presencia de resistencia en la mayoría de los antihelmínticos (43, 62, 84).

1.2.3.2 Resistencia lateral

La resistencia lateral es la evasión de algunos individuos de una población a un producto antihelmíntico similar a otro en estructura química y modo de acción, hacia el cual se desarrolló originalmente una selección de individuos resistentes (51, 75).

Se ha demostrado experimentalmente resistencia lateral al tiabendazol y parabendazol, en ovinos naturalmente infestados con H. contortus a dosis de 50 y 100 mg de peso respectivamente (49).

Se menciona que una cepa de H. contortus, manifestó resistencia lateral para el fenbendazol, usando como testigo una cepa del mismo parásito con resistencia conocida al tiabendazol (46). También se ha demostrado resistencia lateral para otros productos y entre uno o varios bencimidazoles (8, 22, 78,92, 94).

Comparando la eficacia de tres productos bencimidazoles en un número igual de unidades de producción ovinas, H. contortus manifestó resistencia al tiabendazol en dos de ellas. La eficacia del producto en la primera y en la tercera fue del 15% y 6% respectivamente ¹⁷.

Una cepa de H. contortus resistente a los bencimidazoles fue comparada con ella misma cinco generaciones más tarde. Los resultados obtenidos en ovinos inoculados experimentalmente expresan resistencia lateral para oxfendazol (41).

¹⁷ Valnoski, M., Kupiec, D., Guito, K., Shum, K.: Op. Cit.

1.2.3.3 Resistencia cruzada

Es similar a la resistencia lateral y se presenta para compuestos diferentes en estructura química y modo de acción, como consecuencia del desarrollo de resistencia en alguno de ellos (51, 75).

Una cepa de H. contortus resistente al parabendazol, presentó en ovinos, resistencia cruzada a otros bencimidazoles como tiabendazol, mebendazol, fenbendazol y cambendazol. Esta manifestación de resistencia se presentó en esta población, seis años después de la utilización continua del parabendazol. Los bencimidazoles para los que mostró resistencia cruzada no tuvieron contacto anterior con el parásito (8).

Utilizando ovinos infestados naturalmente con H. contortus susceptibles y resistentes al cambendazol, se observó resistencia cruzada al tiabendazol, mebendazol y oxfendazol. El efecto del cambendazol en la población susceptible fue del 98% de efectividad, mientras que en la población resistente la eficacia del producto fue del 10%. En el mismo trabajo el levamisol presentó una efectividad del 100% en las dos poblaciones (19).

Una cepa de H. contortus fue expuesta a diferentes bencimidazoles para determinar resistencia hacia alguno de ellos. Al finalizar el trabajo se demostró, elevada resistencia cruzada de la cepa de H. contortus para el tiabendazol, mebendazol y oxibendazol. Esta observación fue apoyada por pruebas *in vitro* realizadas

mediante la técnica de Coles y Simpkin (39).

1.2.3.4 Resistencia múltiple

Esta ocurre cuando los individuos son resistentes a dos o más grupos de antihelmínticos, diferentes en estructura química y modo de acción, como resultado de la selección independiente para cada uno de ellos o como respuesta de resistencia cruzada (12, 23, 51, 75).

Le Jambre y colaboradores (58) realizaron tratamientos frecuentes, alternando tiabendazol, tartrato de morantel y levamisol en poblaciones de H. contortus, O. circumcincta y T. colubriformis. El resultado observado fue la presencia de resistencia múltiple de los tres parásitos para los tres antihelmínticos, con la misma rapidez.

1.2.3.5 Reversión

Existe un mecanismo que se refiere al retorno de los nematodos resistentes a su estado de susceptibilidad original llamado "Reversión". Hipotéticamente la población resistente debería regresar a su estado de susceptibilidad original, cuando la presión de selección desaparece, más, en la realidad el retorno parece ser muy lento (50, 51, 75).

El uso prolongado del tiabendazol propició en un rebaño ovino la presencia de resistencia en una cepa de H. contortus, sin embargo

después de la utilización de levamisol la eficacia volvió a ser del 95% (51). Esta manifestación de reversión puede ser engañosa, puesto que al introducir nuevamente el producto problema, se presenta en la segunda o tercera aplicación, niveles iguales o superiores al inicial de selección. Es un hecho también que alternar frecuentemente los antihelmínticos puede incrementar la velocidad, la variación y el desarrollo de resistencia (51, 84, 96).

1.2.3.6 Mecanismos de selección de cepas resistentes

Los estudios iniciales sobre el desarrollo de resistencia, se basan primordialmente, por la presencia de este fenómeno en los insecticidas. La resistencia es una manifestación genética, se considera que los genes causales se encuentran en un bajo porcentaje dentro de una población, es decir, los individuos resistentes ya están presentes, pero al ser sometidos a una presión de selección, como son los contactos con diferentes antihelmínticos (tratamientos), la frecuencia de los mismos, dosis del producto empleado y grado de infestación parasitaria, la frecuencia se incrementa, como resultado de la sobrevivencia de los individuos que soportaron el contacto con el producto. Estos individuos contribuyen grandemente para acentuar el problema en generaciones subsecuentes, sobre todo cuando las condiciones climáticas son favorables (58, 75, 84).

1.2.3.7 Epidemiología de la resistencia antihelmíntica

Los factores epidemiológicos que contribuyen en el desarrollo de resistencia antihelmíntica, pueden ser clasificados en: el alto potencial biótico del parásito; características del clima ideal del área de supervivencia de los estados de vida libre del parásito y los tipos y sistemas de producción de las granjas o unidades de producción y la forma específica de criar los ovinos en el área (95). La resistencia a los antihelmínticos en los nematodos, se desarrolla necesariamente, ya que éstos poseen variabilidad genética, lo que permite también el desarrollo de resistencia para uno o varios productos. El solo uso de un producto con parentesco químico, favorece la presencia de resistencia en una población. El grado de resistencia entre diferentes productos parece estar relacionado con el producto antihelmíntico y la frecuencia de uso (95).

Por otro lado existen evidencias que los nematodos resistentes, presentan mayor porcentaje de establecimiento en el hospedero, son más fecundos, más patógenos y se ha visto incrementada la supervivencia de los estados de vida libre (84, 95). En las cepas de nematodos resistentes, la embrionación y la eclosión se llevan a cabo aun en presencia de concentraciones altas de atihelmínticos. En comparación con huevos de poblaciones susceptibles, este proceso se ve inhibido (84). La resistencia no es una manifestación absoluta, es decir no se encuentra una población que resista en su totalidad la acción del producto, sin embargo las DL50 y DL90 son más altas en las poblaciones resistentes que en las

susceptibles (84).

1.2.3.8 Diagnóstico de resistencia antihelmíntica

Para determinar la existencia y el grado de resistencia antihelmíntica, principalmente contra los bencimidazoles, se ha utilizado a H. contortus, nematodo que desarrolla esta capacidad con mayor facilidad (3,4,8,33,36,39,40,41,42,46,50,51,54,58,66,69,72, 75,78,83,91,92,96,97).

Un indicador para sospechar de resistencia antihelmíntica, es la presentación de signos clínicos de la enfermedad después del tratamiento, o la variación en la respuesta a la terapia. Los productores normalmente manifiestan su inconformidad cuando un producto no le proporciona los beneficios esperados, a lo cual los fabricantes de los productos, argumentan que las fallas se deben a otras causas, entre las que se cuentan, mala utilización del producto, dosificación incorrecta, infestaciones agudas, etc. Estas explicaciones no son totalmente aceptadas por los ganaderos y pequeños productores, sin embargo al no tener otra alternativa se continúa empleando el compuesto, incrementándose así la selección de individuos resistentes (42).

Para poder determinar la presencia de resistencia en un rebaño, es necesario primero, diagnosticar la parasitosis por nematodos gastroentéricos apoyado por el laboratorio, sin confundir padecimientos de origen nutricional, por deficiencias de elementos,

por intoxicaciones y por acción de virus, bacterias, protozoarios, etc. Cuando se tiene el fundamento que existe resistencia antihelmíntica, se procede a recavar información sobre los ovinos, sobre los antihelmínticos utilizados en la actualidad y anteriormente, el tipo de empresa, cuidados en el sistema de pastoreo y aspectos nutricionales. La resistencia puede ser diagnosticada mediante tres procedimientos (47).

a) Reducción del número de huevos en heces

Se requiere contar con un número no menor de 10 ovinos por cada grupo, que estén eliminando en promedio 200 huevos de nematodos por gramo de heces. Además de la aplicación de técnicas ordinarias como la de McMaster, es necesario la utilización de técnicas que detecten cantidades menores de 50 huevos por gramo de heces, para lo cual es de gran valor la técnica universal (97). Es necesario contar con un grupo testigo que compare la eliminación de huevos entre los subgrupos y que deberá permanecer bajo las mismas condiciones de manejo y alimentación que el o los grupos experimentales (75).

Esta prueba evalúa la cantidad de huevos contenidos en las heces, antes y entre cinco y diez días después del tratamiento. Los resultados se expresan en porcentaje de eficacia, basándose en la reducción sobre la eliminación de huevos. Se debe tomar en cuenta que el porcentaje de reducción, por lo general siempre será igual o

superior a 95%. Cuando la resistencia antihelmíntica se encuentra presente, falla la efectividad del antihelmíntico y se reduce el número de huevos, sin ser total su eliminación (73). El porcentaje de eficacia en estos casos no rebasa el 95% más sin embargo puede enmascarar el resultado debido a que no existe una correlación directa entre el número de huevos y gusanos adultos. Lo que la prueba manifiesta es la acción del producto en contra de hembras sexualmente maduras y que en este momento se encuentran eliminando huevos junto con las heces (14,75). Por otro lado uno de los inconvenientes de esta prueba, aparte de no tomar en cuenta los machos, hembras jóvenes y fases inmaduras, es la inhibición temporal en la eliminación de huevos en hembras de I. colubriformis y Q. circumcincta, los primeros días después del tratamiento sobre todo por el efecto de los bencimidazoles, levamisol y naftálofos, lo que podría sobrevalorar al producto utilizado (74).

Para determinar el porcentaje de eficacia se requiere obtener las medias geométricas en el conteo de huevos. Es necesario también transformar logarítmicamente el número obtenido, con el fin de evitar la variación de datos. La fórmula mediante la cual se obtendrá el porcentaje de eficacia, es la siguiente:

$$\% \text{RNHH} = \left(\frac{T A}{C D} \times \frac{C A}{T D} \right) \times 100 \quad (19,80)$$

donde RNHH= reducción del número de huevos en heces

T = medias geométricas del grupo tratado

C= media geométrica del grupo control

A= cuenta de huevos antes del tratamiento

D= cuenta de huevos después del tratamiento

Para determinar la presencia y grado de resistencia antihelmíntica se deben tomar en cuenta el porcentaje de reducción de huevos en heces. Si la eliminación es superior al 90% se puede pensar en la presencia de algunos individuos resistentes en la población. Cuando el porcentaje de eliminación se encuentra entre el 80 y 90%, la población contendrá un número moderado de parásitos resistentes al producto. Por último los porcentajes menores al 80% indican un claro establecimiento de individuos resistentes en la población. Cuando se obtiene una efectividad de 90% en adelante, es necesario someter los huevos de la población sospechosa, a una prueba *in vitro*, además de cultivar los huevos para determinar el género y especie responsable (74).

b) Prueba *in vitro*

Se realiza con los huevos de nematodos en una población ovina sospechosa de resistencia a los bencimidazoles. Los bencimidazoles integrantes de este grupo evitan el desarrollo y la eclosion larvaria, por lo cual se utilizan para esta prueba y como modelo para evaluar productos de otros grupos (27,57).

Los animales involucrados deben ser desparasitados con el antihelmíntico que se quiere evaluar. Después de diez días del tratamiento se localizan los animales que estén eliminando huevos junto con las heces. Los huevos se someten a diferentes diluciones en ppm del producto y se cuantifican de acuerdo al grado de evolución, es decir los huevos sin progreso, los huevos con larva en su interior y las larvas eclosionadas. Por medio del análisis "Probit" se obtiene la DL50 de esta población problema y se compara con la DL50 de una cepa susceptible. El resultado se define como índice de resistencia lo que quiere decir que se necesita aumentar tantas veces la dosis letal 50 de la cepa susceptible para producir los mismos efectos en la cepa resistente (27, 75, 97).

La utilización de esta técnica tiene la ventaja de ser económica, rápida, sencilla y confiable. Sin embargo en infestaciones mixtas, se requiere cultivar los huevos para determinar el género involucrado, además de aplicar la técnica universal para detectar conteos inferiores a 50 huevos por gramo de heces (14).

c) Pruebas controladas

Es el método más eficaz para evaluar los antihelmínticos y a su vez, la resistencia de los nematodos hacia los mismos. Se requiere primeramente aislar la población parasitaria de la cual se sospecha de ser resistente, reproducirla y con ella infestar artificialmente dos grupos de animales. Al primer grupo se le administra el tratamiento antiparasitario con el producto a evaluar, dejando al otro grupo como testigo del tratamiento. Los animales de ambos grupos se sacrifican y se aíslan de ellos los gusanos que son contados y se comparan las cargas entre los animales tratados y no tratados, obteniéndose así los porcentajes de eficacia para la droga. Es necesario comparar la población sospechosa, con otra que sea susceptible o con literatura que mencione las características de las poblaciones susceptibles. Un producto es altamente efectivo, cuando elimina más del 90% de los gusanos; moderadamente efectivo cuando elimina entre 80% y 90 %; de baja efectividad entre el 60%, y 80% y se considera como inefectivo cuando la efectividad es menor al 60% (26,73).

1.3 JUSTIFICACION

La actividad de los parásitos, sobre los animales domésticos, puede tener diferentes efectos; algunos no causan daños, son inocuos, sin embargo existen otras formas parásitas que producen efectos patológicos de consecuencias graves o fatales para el

individuo que los aloja. Los efectos causados por estos vermes, son variados y se encuentran en función de la forma en que adquieren los elementos necesarios para su mantenimiento y multiplicación. En todos los casos, el agente patógeno es la causa indirecta en la disminución del aprovechamiento de los alimentos por parte del hospedador y responsable directo en el desequilibrio de su organismo. Estos cambios producidos en la capacidad del individuo parasitado, trae como consecuencia pérdidas económicas y deficiencias en la calidad de los subproductos animales. En México durante 1980 (24), las pérdidas económicas estimadas por causa de padecimientos parasitarios en ovinos fueron de 328 millones de pesos.

La obtención de productos antihelmínticos con elevados niveles de eficacia, ha propiciado en forma paralela a su uso, la evasión gradual de las poblaciones de parásitos al efecto, con la consecuente respuesta económica que esto implica. En Australia por ejemplo, país con elevada prevalencia de resistencia antihelmíntica en ovinos y caprinos, los efectos económicos estimados durante el periodo de 1980-1982, fueron superiores a los 430 millones de dolares (94). En México, recientes estudios realizados por Campos (14), indican la presencia de resistencia a los antihelmínticos del grupo de los bencimidazoles, exclusivamente en zonas tropicales, por parte de poblaciones de Haemonchus contortus, como único nematodo involucrado en este proceso.

Hasta el momento, en México se ignora la magnitud del

problema, sin embargo si consideramos la disponibilidad de los productos antihelmínticos y su uso comun, no es difícil pensar que se encuentre presente en otras áreas, además de las mencionadas por Campos (14), donde las condiciones y el medio ambiente sean propicios.

Estas consideraciones han llevado a pensar que la utilización de productos que no se habían probado en nuestro país, pudieran contribuir eficientemente en el control de poblaciones de nematodos resistentes a compuestos de grupos similiares o diferentes, sin que esta característica negativa fuera adquirida por los mismos.

Se pretendió en este trabajo exponer poblaciones aisladas en México de Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol, ante la dosis de un antihelmíntico probencimidazol con el fin de conocer sus alcances y limitaciones en la manifestación de resistencia; el abatimiento de parásitos adultos y la reducción en el porcentaje de huevos eliminados por gramo de heces.

En consecuencia, se considera que toda investigación que se haga en este campo merece nuestra atención. Por consiguiente, el interés fundamental de este trabajo se centró en la evaluación precisa de la eficacia del netobimin contra poblaciones de Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol, permitiendo así su valoración *in vivo* .

1.4 HIPOTESIS

La población aislada de H. contortus (1HcRB-INIFAP), originaria de ovinos del Centro Experimental Pecuario "Las Margaritas" en Hueytamalco, Puebla y mantenida en el CENID-Macrobiología-Parasitología Veterinaria en Jiutepec, Morelos, resistente al albendazol, es susceptible al netobimin.

La población aislada de H. contortus (1HcSB-INIFAP), proveniente de ovinos de Apaseo el Alto, Guanajuato y mantenida en ovinos en el CENID-Macrobiología-Parasitología Veterinaria en Jiutepec, Morelos, es susceptible al albendazol y al netobimin.

Los parámetros hemáticos de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas, leucocitos y eritrocitos de ovinos experimentales son alterados en mayor proporción, cuando son inoculados con poblaciones de H. contortus resistentes a los bencimidazoles que cuando se inoculan con poblaciones de H. contortus susceptibles a los mismos.

1.5 OBJETIVOS

Quantificar la eficacia del netobimin a dosis de 7.5 mg/kg de peso, por vía oral, contra una población de Haemonchus contortus resistente al albendazol, por medio de infestaciones controladas en ovinos, comparándola contra otra población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol, ambas aisladas en México.

Comparar las alteraciones en los parámetros hemáticos de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas, leucocitos y glóbulos rojos, de los ovinos inoculados artificialmente con las poblaciones de Haemonchus contortus resistentes (1HcRB) y susceptibles (1HcSB) al albendazol.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Parásitos

La población de Haemonchus contortus resistente al albendazol (1HcRB-INIFAP), comprobada por medio de la técnica descrita por Whitlock, tiene su origen en el Centro Experimental Pecuario "Las Margaritas", manteniéndose actualmente en cultivo y en pases en ovinos, en el CENID-Macrobiología en Parasitología Veterinaria, durante un período de cuatro años ¹⁸.

La población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol (1HcSB-INIFAP) fue obtenida mediante aislamientos del nematodo del abomaso de ovinos en el rastro de ovinos y caprinos de Apaseo el Alto, Guanajuato y sometida a pruebas *in vitro* mediante la técnica descrita por Whitlock (97) y mencionada por Campos (16), para determinar su susceptibilidad.

¹⁸ Bello, P.E. y Campos, R.R.: Establecimiento de una cepa de Haemonchus contortus artificialmente resistente a los bencimidazoles (Datos no publicados).

2.2 Ovinos donadores del parásito

Se utilizaron dos ovinos machos, criollos, de aproximadamente cuatro meses de edad, con un peso promedio de 10 kg, los cuales se mantuvieron en jaulas metabólicas individuales. La alimentación consistió en alfalfa achicalada y agua a libertad durante toda la fase de obtención larvaria. Cada ovino fue inoculado con 5000 larvas infestantes L3 de Haemonchus contortus (73). Un ovino se inoculó con la población obtenida en 1989 en un rastro de Apaseo el Alto, Guanajuato, que mostró ser susceptible al albendazol. Otro ovino se inoculó con la población resistente al albendazol. Los huevos que eliminaron con las heces ambos borregos, fueron cultivados por separado en el laboratorio, con el fin de producir suficiente cantidad de larvas para inocular 40 ovinos que serán descritos posteriormente.

2.3 Verificación del grado de resistencia

Cuando los ovinos donadores del parásito iniciaron la eliminación de huevos mezclados entre las heces, éstos fueron sometidos a la prueba *in vitro* de Whitlock (97), con el fin de verificar el índice de resistencia y la susceptibilidad al albendazol de las dos poblaciones de Haemonchus contortus. Las muestras se tomaron directamente del recto y se formó una suspensión homogénea con agua destilada y solución glucosada. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos en botellas cerradas

herméticamente. Después de los 30 minutos los recipientes fueron vaciados, obteniéndose todos los huevos en un solo concentrado (97).

Mientras se dejaron reposar las botellas, para fijar los huevos, fueron colocados 8 frascos con capacidad de 10 ml cada uno y se identificaron con las diluciones de albendazol que contendrían, es decir, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 y 1.1. Cada frasco fue aforado a 5 ml con agua destilada, incluyendo el frasco testigo. Posteriormente se agregaron a cada frasco 5 ml de concentrado de huevos, para ser incubados entre 27 y 30 C, durante 24 horas. Después de las 24 horas, los frascos fueron retirados de la incubadora, agregando cinco gotas de solución de yodo, con el fin de detener el proceso de embrionación y eclosión larvaria. La lectura se llevó a cabo en cada uno de los frascos, tomando en cuenta los huevos como tales, los huevos larvados y las larvas eclosionadas. Por medio del análisis estadístico "Probit" (27,48), se determinó la dosis letal cincuenta (DL50). A la población susceptible se le denominó 1HcSB, y a la resistente 1HcRB, la cual es experimentalmente resistente al albendazol a dosis comercial de 3.8 mg/kg de peso corporal ¹⁹.

2.4 Obtención de larvas infestantes

De los dos ovinos instalados en las jaulas metabólicas, que contenían las poblaciones 1HcSB y 1HcRB, se obtuvieron las heces por separado. En el laboratorio se cultivaron mediante la técnica de

¹⁹ Idem.

Whitlock (97), estableciéndose con anterioridad el número de huevos por gramo de heces (hpg), por medio de la técnica de McMaster. Entre los 5 y 7 días, los huevos cultivados, evolucionaron a L3 y fueron colectados por medio de la técnica de Baermann. Para cuantificar las L3, se lavaron y filtraron hasta completar 150 000 aproximadamente para cada una de las poblaciones. Las larvas utilizadas fueron aquellas que presentaron las características morfométricas específicas de Haemonchus contortus y que estuvieron en movimiento ²⁰(59).

2.5 Preparación de la dosis infestante

Del vaso de precipitado que contenía las L3, fueron tomadas con una micropipeta 5 gotas de 10 microlitros cada una, y colocadas en un portaobjetos. El conteo se realizó, tomando en cuenta las larvas que se encontraron en movimientos. Esta misma metodología se repitió en 20 portaobjetos para completar 1 ml. De esta manera se pudo saber cuantas larvas contiene 1 ml, estableciéndose por medio de una regla de tres el número de L3 que contenía el vaso de precipitado. Posteriormente se repartieron dosis individuales de 10,000 larvas, para cada uno de los ovinos²¹ (73).

²⁰ Idem.

²¹ Idem.

2.6 Ovinos experimentales

Para el trabajo experimental se emplearon 40 ovinos machos, criollos de lana, de aproximadamente 8 meses de edad, con un peso promedio de 25kg. Los ovinos se encontraban libres de nematodos gastroentéricos, comprobándose por medio de técnicas coproparasitoscópicas de McMaster y flotación, por lo tanto no fue necesario desparasitarlos ni manejarlos antes de iniciar el experimento. Los ovinos se alojaron en dos corrales de 50m² de superficie, con piso de cemento y techados en un 60% del área total, en el rancho "San Francisco", propiedad de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el km 3 de la carretera Chalco-Mixquic. Fueron alimentados con una mezcla de gallinaza-melaza, rastrojo de maíz molido, alfalfa verde de corte y agua a libertad. Los cuidados fueron similares en todos los animales a lo largo de la etapa experimental, contando para ello con personal de la misma institución.

Después de identificar los ovinos, se formaron 2 grupos (I y II), con 20 ovinos cada uno. Al dar inicio la eliminación de huevos, los grupos I y II fueron separados en subgrupos A, B, C, D y E, F, G, H, conteniendo 5 animales cada uno. El criterio de eliminación de huevos por gramo de heces, fue tomado en cuenta para formar los subgrupos de manera más homogénea (cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de los ovinos experimentales en grupos y subgrupos

Grupo	Subgrupo	No ovinos
I	A	5
I	B	5
I	C	5
I	D	5
II	E	5
II	F	5
II	G	5
II	H	5

2.6.1 Infestación de los ovinos

Los ovinos de los subgrupos A, B, y C que formaron parte del grupo I, fueron infestados por vía oral con aproximadamente 10,000 L3 de Haemonchus contortus resistentes al albendazol (1HcRB), quedando el subgrupo D como testigo de este grupo, sin recibir dosis infestante (Cuadro 2).

Los ovinos de los subgrupos E, F y G, integrantes del grupo II, fueron infestados por vía oral, con aproximadamente 10,000 L3 de Haemonchus contortus susceptibles al albendazol (1HcSB). El subgrupo H actuó como testigo del grupo II (cuadro 2).

El día de la inoculación fue, para cada uno de los dos grupos, el día uno del trabajo experimental.

2.6.2 Tratamientos antihelmínticos

A los 42 días después de la infestación de los ovinos, el subgrupo A del grupo I y el subgrupo E del grupo II, fueron desparasitados por vía oral, con netobimin a dosis comercial de 7.5 mg/kg de peso corporal. El subgrupo B del grupo I y el subgrupo F del grupo II, fueron desparasitados con albendazol por vía oral a dosis comercial de 3.8 mg/kg de peso corporal. Los subgrupos C y G, integrantes del grupo I y II respectivamente, no se desparasitaron, funcionaron como testigos positivos, es decir fueron inoculados. Los subgrupos D y H, actuaron como testigos limpios para cada uno de los grupos, es decir, no fueron infestados ni tratados (Cuadro 2).

2.6.3 Exámenes coproparasitológicos

Los 40 ovinos fueron muestreados por vía rectal cada siete días, incluyendo dos muestreos previos al inicio del trabajo experimental, hasta el momento del sacrificio. La principal función de estos muestreos fue determinar el número y el momento de eliminación de huevos por gramo de heces (hpg) al inicio, así como establecer claramente el porcentaje de eliminación después del tratamiento.

2.6.4 Técnicas para obtener los parámetros hemáticos

A todos los ovinos se les tomaron muestras de sangre cada 7 días, a partir del día de la infestación experimental. La obtención de la muestra, fue obtenida por punción de la vena yugular en tubos vacutainer. La cantidad de sangre obtenida fue de 5 ml, utilizando como anticoagulante la sal disódica del ácido etilenodiamino tetra acético (EDTA), a razón de 0.5 a 1 mg/ 5 ml. Hematocrito: el porcentaje fue determinado por medio de la técnica de microhematocrito en tubo capilar (18) La hemoglobina se determinó por medio del hemoglobímetro de Spencer (18). Las proteínas plasmáticas se midieron con un espectrofotómetro (18). Para obtener las cuentas totales de glóbulos rojos y leucocitos se utilizaron las cámaras de Neubauer y la técnica descrita por Coffin (18).

Los valores hemáticos fueron sometidos al análisis de varianza e evaluados por el efecto causado al sistema hematopoyético y comparados entre las poblaciones susceptibles y resistentes al albendazol.

2.6.5 Sacrificio de los ovinos experimentales

Se realizó diez días después del tratamiento antihelmíntico en los ovinos de ambos grupos. Al ser eviscerados se obtuvieron los abomasos ligándolos de los esfínteres omaso-abomasal y abomaso-

duodenal, posteriormente se guardaron en bolsas de plástico con la identificación individual de cada ovino, transportándose al laboratorio en un recipiente de poliuretano con hielo para su conservación.

2.7 Preparación de alicuotas

En el laboratorio se realizó la disección de cada uno de los abomasos siguiendo su curvatura mayor, su contenido fue vaciado completamente en una cubeta y se aforó a 2 litros con agua corriente. Del contenido se tomó una alicuota del 10%, es decir, 200 ml depositándose en frascos de vidrio identificados con el número de arete, grupo y subgrupo al que pertenecieron. A cada frasco le fueron añadidos 20 ml de formol al 10% para la conservación de los parásitos.

2.7.1 Recuperación de parásitos

La alicuotas contenidas en los frascos se hicieron pasar por un tamíz, que impidió el paso de los gusanos adultos. Con agua de la llave fue lavado el residuo del tamíz para eliminar la basura más fina y el formol. El sobrante conteniendo los gusanos fue cambiado a una caja de petrí, donde por medio del microscopio estereoscópico, se colectaron los parásitos presentes.

2.7.2 Identificación y cuantificación de los parásitos

Se colocaron entre 2 y 3 parásitos sobre un portaobjetos, con ayuda de un microscopio compuesto se realizó la identificación, tomando en cuenta sus características morfológicas (59,71,84). Con base en esta caracterización se estableció el número de machos y hembras que contenía cada una de las alicuotas.

2.7.3 Determinación de la eficacia antihelmíntica

Para obtener la eficacia del netobimin y albendazol en los aislados 1HcSB y 1HcRB, se aplicó la siguiente fórmula de Powers (73):

$$\% \text{ de eficacia} = \frac{\text{PPGC} - \text{PPGT}}{\text{PPGC}} \times 100$$

Donde : PPGC = promedio de parásitos en el grupo control
PPGT = promedio de parásitos en el grupo tratado

2.8 Diseño experimental

Cuadro 2. Esquema del diseño experimental

Grupo	Subgrupo	No de ovinos	Inóculo L3 (miles)	Población	Tratamiento antihelmíntico	Dosis (mg/kg)	Vía
I	A	5	10	1HcRB	Netobimin	7.5	oral
I	B	5	10	1HcRB	Albendazol	3.8	oral
I	C	5	10	1HcRB	s/t	-	-
I	D	5	s/i	-	-	-	-
II	E	5	10	1HcSB	Netobimin	7.5	oral
II	F	5	10	1HcSB	Albendazol	3.8	oral
II	G	5	10	1HcSB	s/t	-	-
II	H	5	s/i	-	-	-	-

Donde: 1HcRB= Población de Haemonchus contortus resistente al albendazol

1HcSB= Población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol

s/t = sin tratamiento

s/i = sin inoculación

III. RESULTADOS

3.1 Poblaciones del parásito inoculadas

3.1.1 Haemonchus contortus resistente al albendazol (1HcRB)

La población de Haemonchus contortus resistente al albendazol (1HcRB), presentó una dosis letal cincuenta (DL50) de 0.469 y un índice de 20 como resistencia conocida.

En esta población resistente al albendazol, se realizó la verificación del grado de resistencia. La prueba *in vitro* mostró en las diluciones 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 y 1.1 ppm, porcentajes de 80%, 79%, 80%, 44%, 26%, 13% y 12% de evolución de huevos a larvas eclosionadas respectivamente. El testigo de la prueba sin concentración del producto antihelmíntico evaluado (0.0 ppm), permitió la evolución de huevos a larvas en un 89% (cuadro No 3).

3.1.2 Haemonchus contortus susceptible al albendazol (1HcSB)

La población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol (1HcSB), mostró de 10 repeticiones, un promedio del 2% de evolución general de huevos a larvas eclosionadas con la dilución más baja del antihelmíntico (0.1 ppm). Las diluciones 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 y 1.1 mostraron en este mismo orden, el 2%, 3%, 1% , 1%, 2% y 0% de desarrollo larvario. Como se puede observar el porcentaje de L1 disminuyó conforme la concentración de albendazol fue siendo

mayor. Este efecto no se observa en el testigo de la prueba, en donde los huevos presentaron un progreso a larvas uno (L1) en un 91%. En términos generales la inhibición de la eclosión se mantuvo entre el 97% y 100%, incluyendo las menores concentraciones de albendazol. Como consecuencia la dosis letal 50 (DL50) para esta población fue de 0.023 ppm, lo que quiere decir que la población probada es altamente susceptible al albendazol (97)(cuadro 4).

Cuadro 3. Resultados promedio de la prueba *in vitro* aplicada a huevos de Haemonchus contortus resistentes al albendazol para confirmar el índice de resistencia

Dilución (ppm)	Huevos %	Huevos larvados %	larvas eclosionadas %	Total %
0.1	08	12	80	100
0.2	16	5	79	100
0.3	16	4	80	100
0.5	52	4	44	100
0.7	73	1	26	100
0.9	87	0	13	100
1.1	88	0	12	100
Testigo	7	4	89	100

Cuadro 4. Resultados promedio de la prueba *in vitro* aplicada a huevos de Haemonchus contortus de Apaseo el Alto, Gto. para determinar su susceptibilidad

Dilución (ppm)	Huevos %	Huevos larvados %	larvas eclosionadas %	TOTAL %
0.1	95	3	2	100
0.2	97	1	2	100
0.3	97	0	3	100
0.5	98	1	1	100
0.7	97	2	1	100
0.9	98	0	2	100
1.1	100	0	0	100
testigo	7	2	91	100

3.2 Inoculación de los ovinos

Al cabo de cuatro semanas se obtuvieron aproximadamente 150,000 L3 de Haemonchus contortus de la población resistente al albendazol y un número igual para la población susceptible.

Los ovinos de los subgrupos A, B y C, quince en total, pertenecientes al grupo I, fueron inoculados cada uno con aproximadamente 10,000 larvas infestantes L3 de Haemonchus contortus resistentes al albendazol, para lo cual se requirió de aproximadamente 150,000 larvas de la población mencionada.

Los subgrupos E, F y G del grupo II ocuparon una cantidad similar de larvas infestantes para cada ovino haciendo un total necesario de 150,000

Se sufrió la pérdida de dos animales, uno del sugrupo F y otro del subgrupo G. En consecuencia se ajustaron los datos a cuatro ovinos en estos mismos subgrupos para evitar un sesgo en el proceso estadístico.

3.3 Tratamiento antihelmíntico

Después de 42 días de la infestación y en base a su peso corporal, cada uno de los ovinos de los subgrupos A y E, y B y F fueron desparasitados con netobimin y albendazol respectivamente. Los tratamientos en base a las recomendaciones del fabricante fueron para el albendazol (Valbazen 2.5, Norden de México, Division veterinaria de Smithkline & French, S.A.), 3.8 mg/kg de peso, por vía oral. Para el netobimin (Hapadex, Scheramex, S.A. de C.V) la dosis indicada fue de 7.5 mg/kg de peso, por vía oral. Las dosis de acuerdo con el peso individual de los ovinos experimentales, se pueden ver en los cuadros 5 y 6.

Los pesos totales en los subgrupos A y E fueron de 179 kg y 170 kg respectivamente. La media aritmética para estos mismos grupos fueron de 35.8 ± 7.4 kg y 42.5 ± 0.6 . En consecuencia la dosis promedio de netobimin utilizada en el subgrupo A fue de 1.8 mg por ovino y en el subgrupo E de 2.1 mg por individuo.

Cuadro 5. Grupo I. Peso, dosis y producto utilizado en cada uno de los ovinos inoculados con la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol

Número	Subgrupo	Peso (kg)	Dosis (mg/kg)	Producto
1	A	28	1.4	Netobimin
2	A	36	1.8	Netobimin
3	A	33	1.6	Netobimin
4	A	48	2.4	Netobimin
5	A	34	1.7	Netobimin
6	B	34	5.1	Albendazol
7	B	33	4.9	Albendazol
8	B	37	5.5	Albendazol
9	B	47	7.0	Albendazol
10	B	46	6.9	Albendazol

Cuadro 6. Grupo II. Peso, dosis y producto utilizado en cada de los ovinos inoculados con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol

Número	Subgrupo	Peso (kg)	Dosis (mg/kg)	Producto
1	E	43	2.1	Netobimin
2	E	43	2.1	Netobimin
3	E	42	2.1	Netobimin
4	E	42	2.1	Netobimin
5	F	42	6.3	Albendazol
6	F	35	5.2	Albendazol
7	F	34	5.1	Albendazol
8	F	30	4.5	Albendazol
9	F	42	6.3	Albendazol

Los ovinos de los subgrupos B y F pesaron en total 197 y 183 kg respectivamente. La media aritmética para estos subgrupos fue de 39.4 ± 6.6 y 36.6 ± 5.2 . La dosis de albendazol en promedio por individuo fue de 5.88 mg/ kg en el subgrupo B y de 5.48 mg/kg de peso en el subgrupo F.

3.4 Cuantificación y reducción de huevos en heces (hpgh)

Los ovinos del grupo I iniciaron la eliminación de huevos en las heces a partir de la tercera semana de la infestación (15 días). En el grupo II fue necesario esperar una semana más para detectar huevos en las heces. El período prepatente se alargó a 21 días post-infestación. El número de huevos por gramo de heces para cada ovino, fue determinado por medio de la técnica de McMaster. Los promedios aritméticos y desviación estandar de los subgrupos se presentan en el cuadro 7.

Los promedios y la desviación estandar en el grupo I, fueron los siguientes: los ovinos del grupo I en conjunto eliminaron de la tercera semana en adelante un promedio de huevos de 225 ± 342 , 657.5 ± 529.2 , 8160 ± 5440 , 10657.5 ± 7184.6 y 3975.7 ± 7256.7 para cada uno de los siete muestreos respectivamente. Sin embargo los promedios que aquí se mencionan son cinco para cada grupo en virtud que los dos restantes fueron tomados al inicio de la infestación y resultaron relativos. En comparación con los ovinos integrantes del grupo II, las medias generales en la eliminación de huevos por

subgrupo fueron: 595 ± 597.6 , 3500 ± 2400.9 , 4277.5 ± 2918.1 , 1925 ± 3850 , 2550 ± 5100 (cuadro 7).

El porcentaje en la reducción del número de huevos por gramo de heces (hpg) fue después del tratamiento antihelmíntico del 98.2% para el netobimin y del 93.8% para el albendazol en los subgrupos A y B respectivamente. En los subgrupos E y F infestados con la población susceptible al albendazol la reducción en el porcentaje de eliminación de huevos por gramo de heces fue del 100% para el netobimin y 100% para el albendazol.

3.5 Parámetros hemáticos

En el grupo I los porcentajes promedio del hematocrito para el subgrupo A del grupo I, fueron 40.2 ± 6.3 , 32.8 ± 2.6 , 36.0 ± 5.2 , 28.6 ± 3.0 , 28.8 ± 3.7 y 28.2 ± 4.1 . En el subgrupo B, de 38.4 ± 2.7 , 31.4 ± 4.4 , 30.4 ± 2.4 , 27.8 ± 4.9 , 28.8 ± 3.5 y 27.0 ± 4.0 . En el subgrupo C los valores fueron 36.4 ± 4.9 , 33 ± 3.1 , 32.4 ± 5.6 , 28.2 ± 2.6 , 28.2 ± 3.7 28.2 ± 2.5 . En los ovinos del grupo testigo (D), los valores fueron 37.8 ± 15.7 , 38.0 ± 1.8 , 38.5 ± 2.0 , 36.8 ± 1.7 , 33.8 ± 3.7 y 34.2 ± 3.3 (cuadro 8). El análisis de varianza en este grupo, indica una diferencia altamente significativa ($P < 0.0001$) entre los subgrupos. Con el estadístico t, los subgrupos A, B y C mostraron diferencia altamente significativas con el subgrupo D (cuadro 8). No presentaron diferencias estadísticas otras combinaciones entre estos mismos subgrupos. No obstante a las diferencias estadísticas, desde el enfoque clínico muestran que los

valores se mantuvieron dentro de los rangos normales.

El grupo II presentó los siguientes promedios en el porcentaje del hematocrito. En el subgrupo E, 36.5 ± 1.3 , 31.2 ± 6.8 , 32.0 ± 0.8 , 30.7 ± 2.9 , 30.7 ± 2.9 y 30.2 ± 2.5 . En el subgrupo F, 35.5 ± 1.3 , 32.7 ± 4.1 , 30.5 ± 1.9 , 31.5 ± 1.7 , 31.5 ± 1.7 y 29.2 ± 1.7 . En el subgrupo G, 35.2 ± 2.5 , 35 ± 1.4 , 30.5 ± 0.6 , 30.7 ± 0.5 , 30.7 ± 0.5 y 28.7 ± 0.9 . En el subgrupo H los valores fueron 32.7 ± 1.5 , 30.5 ± 6.2 , 29.5 ± 3.1 , 39.5 ± 2.4 , 31.5 ± 2.4 , 31.5 ± 2.4 y 30.2 ± 2.6 (cuadro 8). Estadísticamente los subgrupos E, F G y H no mostraron diferencias significativas cuando se compararon entre sí. Es decir que medicamente no afectaron a los ovinos experimentales (56).

Los valores de la hemoglobina promedio (gr/100ml), obtenidos en los ovinos pertenecientes al grupo I, fueron en el subgrupo A 12.6 ± 1.4 , 11.7 ± 1.0 , 10.1 ± 1.5 , 10.3 ± 1.4 , 10.3 ± 1.3 y 10.1 ± 1.4 . En el subgrupo B, 10.8 ± 1.3 , 11.2 ± 1.0 , 9.9 ± 2.2 , 10.0 ± 1.0 , 9.9 ± 1.1 y 9.9 ± 1.7 . En el subgrupo C presentó 12.5 ± 0.7 , 11.6 ± 0.9 , 9.7 ± 1.2 , 9.9 ± 1.1 , 9.8 ± 1.8 , y 9.8 ± 1.0 . Por último, en el subgrupo D, 13.0 ± 0.0 , 12.7 ± 0.4 , 12.4 ± 0.5 , 12.4 ± 0.2 , 12.5 ± 0.7 y 12.5 ± 0.7 (cuadro 9). Sometiendo los datos anteriores al análisis de varianza se pudo observar entre los subgrupos diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$) en general. Las diferencias específicas plenamente establecidas mediante la prueba de "t" fueron entre los subgrupos A vs D, B vs D y C vs D mostrando una alta significancia ($P < 0.0005$). Las combinaciones posibles además de las mencionadas fueron incluidas en el análisis, sin embargo no existió diferencia alguna. Tomando en cuenta el

aspecto clínico, el comportamiento de los valores obtenidos no registró valores por debajo de lo normal.

Los valores promedio de la hemoglobina obtenidos en el grupo II fueron el subgrupo E, 11.7 ± 0.5 , 12.0 ± 0.0 , 11.6 ± 0.2 , 10.1 ± 0.5 , 10.5 ± 0.5 , y 10.3 ± 0.9 . En el subgrupo F, 12.3 ± 0.2 , 12.0 ± 1.0 , 11.5 ± 0.7 , 10.5 ± 0.6 , 10.6 ± 0.5 y 10.2 ± 0.8 . En el subgrupo G, 12.0 ± 0.0 , 12.0 ± 0.4 , 11.1 ± 0.6 , 10.2 ± 0.3 , 10.1 ± 0.2 , y 10.3 ± 0.5 . Por último los valores del subgrupo H, 10.8 ± 0.8 , 12.0 ± 1.5 , 11.5 ± 0.5 , 11.1 ± 0.5 , 10.8 ± 0.9 , y 11.0 ± 0.9 (cuadro 9). Los integrantes de este grupo no presentaron diferencias estadísticas en ninguna de sus combinaciones. Desde el punto de vista clínico, estos valores se ajustaron al rango normal (56).

Otro parámetro hemático evaluado fueron las proteínas plasmáticas. El grupo 1 presentó los siguientes valores promedio. El subgrupo A, 6.6 ± 0.2 , 6.8 ± 0.4 , 7.1 ± 0.6 , 7.6 ± 0.4 , 6.8 ± 0.6 y 6.7 ± 0.4 . El subgrupo B, 6.9 ± 0.7 , 6.8 ± 0.3 , 7.0 ± 0.3 , 7.6 ± 0.4 , 7.0 ± 0.5 y 6.8 ± 0.5 . El subgrupo C, 6.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 6.8 ± 0.4 , 7.3 ± 0.3 , 6.6 ± 0.4 , y 6.8 ± 0.4 . El subgrupo D, 7.0 ± 0.4 , 7.2 ± 0.4 , 7.6 ± 0.5 , 8.0 ± 0.4 , 7.3 ± 0.4 , y 7.2 ± 0.4 (cuadro 10). Estos subgrupos presentaron en general diferencia altamente significativa ($p < 0.001$), al ser expuestos al análisis de varianza, además mediante la prueba "t" se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0.0005$) entre A vs D, B vs D y C vs D. Sin embargo, patológicamente no existieron diferencias en virtud de que los valores se encuentran dentro de lo normalmente establecido.

Los valores promedio de las proteínas plasmáticas en el grupo

II, fueron en el subgrupo E, 7.8 ± 0.1 , 7.3 ± 0.2 , 6.8 ± 0.2 , 7.3 ± 0.3 , 7.0 ± 0.4 y 7.4 ± 0.4 . En el subgrupo F, 7.9 ± 0.3 , 7.5 ± 0.5 , 7.0 ± 0.1 , 7.0 ± 0.2 y 7.4 ± 0.4 . En el subgrupo G, 8.1 ± 0.3 , 7.8 ± 0.2 , 7.2 ± 0.4 , 7.8 ± 0.5 , 7.3 ± 0.2 y 7.5 ± 0.2 . Finalmente en el subgrupo H, 7.7 ± 0.4 , 7.7 ± 0.6 , 7.3 ± 0.4 , 7.9 ± 0.2 , 7.2 ± 0.4 y 7.6 ± 0.4 (cuadro 10). El análisis de varianza estableció en general al menos una relación diferente. Al obtenerse el estadístico t, la relación F vs H manifestó diferencia altamente significativa ($p < 0.025$). El resultado médico fue observado dentro del rango normal (56).

En el grupo I las cuentas leucocitarias (miles/mm³) fueron, en promedio las siguientes. En el subgrupo A, 10.6 ± 3.3 , 10.8 ± 2.7 , 12.0 ± 3.4 , 9.5 ± 2.4 , 6.7 ± 3.6 y 9.5 ± 2.9 . En el subgrupo B, 12.2 ± 2.2 , 11.2 ± 2.1 , 11.2 ± 2.4 , 8.3 ± 3.1 , 8.2 ± 2.2 y 9.7 ± 2.6 . En el subgrupo C, 12.2 ± 2.1 , 9.3 ± 1.6 , 10.4 ± 1.9 , 8.6 ± 1.4 , 8.0 ± 1.5 y 8.2 ± 2.8 . En el subgrupo D, los valores fueron, 9.2 ± 1.8 , 9.1 ± 1.8 , 10.7 ± 2.6 , 8.8 ± 1.9 , 8.4 ± 1.6 y 7.2 ± 1.4 (cuadro 11). El comportamiento de los datos aplicando el análisis de varianza y el estadístico "t", mostró solo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre A y D. Esta relación significativa al igual que entre los subgrupos B y C se comportaron clínicamente dentro de los rangos normales.

Este mismo parámetro, leucocitos (miles/mm³), fue medido en los ovinos del grupo II. EL subgrupo E, presentó los siguientes valores; 10.2 ± 2.5 , 8.2 ± 1.2 , 8.3 ± 3.2 , 5.1 ± 2.6 , 7.5 ± 2.0 , y 6.1 ± 2.3 . En el subgrupo F, 8.1 ± 1.0 , 9.9 ± 4.7 , 8.5 ± 1.6 , 6.9 ± 2.7 , 9.0 ± 1.0 , y 7.2 ± 1.5 . En el subgrupo G, 9.2 ± 1.2 , 7.4 ± 2.1 , 8.6 ± 1.5 , 5.3 ± 2.4 , 7.5 ± 2.8 , 8.0 ± 4.7 . En

el subgrupo H, 11.2 ± 2.2 , 9.6 ± 1.5 , 7.5 ± 1.1 , 7.7 ± 0.9 , 10.3 ± 3.6 , 7.6 ± 1.3 (cuadro 11). La relación E vs H presentó diferencia significativa ($P < 0.0005$) al ser sometido al ANOVA y el estadístico "t". Sin embargo a pesar de estas diferencias, los valores observados no salen del rango normal (56).

Por último, los valores promedio (millones por mm^3) en las cuentas eritrocíticas de los ovinos integrantes del grupo I fueron: subgrupo A, 10.6 ± 1.7 , 9.0 ± 0.7 , 9.3 ± 1.4 , 8.1 ± 0.8 , 8.1 ± 1.0 , y 7.8 ± 1.1 . El subgrupo B, 10.5 ± 0.7 , 8.7 ± 1.2 , 8.4 ± 0.6 , 7.7 ± 1.3 , 7.8 ± 0.9 , y 7.5 ± 1.1 . El subgrupo C, 10.4 ± 1.3 , 9.2 ± 0.8 , 9.0 ± 1.5 , 7.8 ± 0.7 , 7.8 ± 1.0 , y 7.7 ± 0.7 . El subgrupo D, 10.5 ± 4.3 , 10.5 ± 0.5 , 10.7 ± 0.8 , 10.2 ± 0.5 , 9.4 ± 1.0 , 9.5 ± 0.8 (cuadro 12).

Estadísticamente se pudo observar en el grupo I diferencias significativas entre los subgrupos A, B y C con respecto a D, es decir entre los subgrupos infestados y el subgrupo testigo sin infestar. No se observaron otras relaciones significativas. Al ser comparadas clínicamente estas relaciones se pudo observar que los valores se mantuvieron dentro de lo normal.

En el grupo II, los valores promedio en los eritrocitos fueron: en el subgrupo E, 10.1 ± 0.3 , 8.9 ± 1.6 , 8.8 ± 0.2 , 7.7 ± 2.0 , 7.8 ± 2.0 , y 8.2 ± 0.7 ; en el subgrupo F, 9.7 ± 0.3 , 9.1 ± 1.1 , 8.5 ± 0.5 , 8.7 ± 0.5 , 8.5 ± 0.5 y 8.1 ± 0.5 ; en el subgrupo G, 9.6 ± 0.7 , 9.6 ± 0.4 , 8.7 ± 0.2 , 8.5 ± 0.1 , 8.5 ± 0.1 , y 8.0 ± 0.3 ; en el subgrupo H, 8.8 ± 0.7 , 8.3 ± 1.5 , 8.0 ± 0.8 , 7.9 ± 2.5 , 7.8 ± 2.5 , y 7.8 ± 1.4 (cuadro 12).

En este grupo II, al ser comparado los subgrupos E, F, G y H y sus posibles combinaciones, no mostraron diferencias estadísticas y los valores clínicos de los ovinos de este grupo se mantuvieron dentro de lo normal (56).

En los cuadros 8, 9, 10, 11 y 12, se presentan los valores promedio y sus respectivas desviaciones estandar para cada uno de los parámetros antes mencionados. La toma de muestras de sangre y su procesamiento se realizó a través del período experimental de siete semanas, para cada uno de los subgrupos que conforman este diseño experimental. Cabe mencionar que las muestras obtenidas en la segunda semana fueron desechadas por presentar hemolisis como efecto de mala conservación.

3.6 Sacrificio de los ovinos experimentales

Los ovinos de los dos grupos se sacrificaron diez días después del tratamiento antihelmíntico. De las alícuotas obtenidas se contaron el total de parásitos adultos hembras y machos y se convirtieron al volumen total.

Grupo I

Los ovinos del subgrupo A infestados con larvas L3 de Haemonchus contortus resistentes al albendazol y desparasitados

con netobimín a razón de 7.5 mg/kg de peso vivo, contenían un total de 1420 parásitos adultos con una media de 284 ± 254.9 , correspondiendo el 60.5% a los machos y 39.4% a las hembras.

Del subgrupo B, infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol y tratado con el mismo producto (albendazol) a dosis de 3.8 mg/kg de peso, se obtuvo un total de 1470 parásitos adultos, una media de 294 ± 291.23 y en lo que se refiere al sexo, el 60.2% corresponde a los machos y el 39.8% a las hembras.

El subgrupo C infestado con L3 del género resistente al albendazol, no fue desparasitado, por lo cual el contenido de las alicuotas y su conversión al volumen total mostró un total de 6275 parásitos adultos, una media de 1255 ± 926.6 , de los cuales el 44.46% y 55.54% fueron machos y hembras respectivamente.

Del subgrupo D, no se encontraron parásitos adultos de este ni de ningún otro género en las alicuotas, como consecuencia de pertenecer al grupo control negativo, el cual no fue infestado ni desparasitado.

Grupo II

Del grupo II, los subgrupos E, F y G, fueron infestados con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol.

Para el subgrupo E, tratado con netobimín a dosis de 7.5 mg/kg de peso, no se encontraron parásitos adultos hembras y machos en

ninguna de las alicuotas.

Al subgrupo F, tratado con albendazol a dosis de 3.8 mg/kg de peso vivo, se le encontraron al ser revisadas las alicuotas un total de 15 parásitos adultos. El promedio de este grupo fue de 3.0 ± 4.4 y el porcentaje para machos y hembras fue del 66.67% y 33.33% respectivamente.

Las alicuotas de los ovinos del subgrupo G, fueron revisadas, encontrándose en ellas un total de 2765 parásitos adultos de los cuales el 36.89% corresponde a los machos y el 63.11% a las hembras, con una media general de 691.25 ± 498.17 .

Por último el subgrupo H, control negativo del grupo II, no presentó parásito alguno cuando se revisaron las alicuotas de estos ovinos. Recordemos que este subgrupo no fue infestado ni desparasitado.

La cantidad de parásitos adultos, hembras y machos y el porcentaje para los dos grupos, lo presenta en resumen el cuadro 13.

Cuadro 13. Número de parásitos adultos hembras y machos encontrados en los ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes al albendazol tratados con albendazol y netobimin

Grupo	Subgrupo	<u>Haemonchus contortus</u>				Total
		Hembras	%	machos	%	
I	A	560	39.4	860	60.5	1420
I	B	585	39.8	885	60.2	1470
I	C	2790	44.4	3485	55.5	6275
I	D	0	0	0	0	0
II	E	0	0	0	0	0
II	F	5	33.3	10	66.6	15
II	G	1745	63.1	1020	36.8	2765
II	H	0	0	0	0	0

3.7 Determinación de eficacia antihelmíntica

Para determinar los porcentajes de eficacia antihelmíntica del netobimin y albendazol en los ovinos infestados con las poblaciones resistentes y susceptibles al albendazol, se utilizó la fórmula recomendada por Powers (73).

Grupo I

EL subgrupo A, respondió al tratamiento a base de netobimin, con una efectividad del 77.4% sobre la población resistente al albendazol (cuadro 14).

El subgrupo B, evaluó el tratamiento a base de albendazol, en la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol. La respuesta a este antihelmíntico fue del 76.6%.

Grupo II

En este grupo el subgrupo E, infestado con la población susceptible al albendazol y tratado con netobimín presentó un nivel de eficacia del 100% para este producto (cuadro 14).

El subgrupo F, tratado con albendazol e infestado con la población susceptible (1HcSB), el porcentaje de eficacia fue del 97.8%.

Al obtener la diferencia de medias entre los subgrupos inoculados con la población resistente, se pudo observar que no existe diferencia significativa ($P > 0.40$) entre los subgrupos A y B tratados con netobimín y albendazol respectivamente (cuadro 15). Entre los subgrupos A (tratado con netobimín) y C (no tratado), se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$) al igual que la comparación entre los subgrupos A y D tratado con netobimín y testigo limpio, donde obviamente la diferencia fue altamente significativa ($P < 0.025$) (60).

Cuadro 14. Promedio de parásitos adultos, desviación estandar y porcentaje de eficacia para cada uno de los subgrupos infestados con poblaciones de Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol

Grupo	Subgrupo	Poblacion	Media x	Desviación estandar	%eficacia albendazol	% eficacia netobimin
I	A	1HcRB	284	254.9	-	77.37
I	B	1HcRB	294	291.2	76.57	-
I	C	1HcRB	1255	929.6	-	-
I	D	-	-	-	-	-
II	E	1HcSB	0	0	-	100
II	F	1HcSB	3	4.47	97.83	-
II	G	1HcSB	692.2	498.2	-	-
II	H	-	-	-	-	-

Donde 1 HcRB= Haemonchus contortus resistente al albendazol
 1 HcSB= Haemonchus contortus susceptible al albendazol

Entre los subgrupos B y C, tratado con albendazol y no tratado, y entre los subgrupos B y D, tratado con Albendazol y sin infestación, hubo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Cuando se compararon las medias de los subgrupos C y D infestado sin tratamiento y testigo limpio (sin infestación ni tratamiento), se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) (60).

Para los subgrupos del grupo II infestados con la población susceptible al albendazol, la prueba que establece la diferencia estadística de las medias, no manifestó ninguna diferencia entre los subgrupos E y F tratado con netobimin y albendazol en este orden. En cambio, al comparar los subgrupos F y G tratado con albendazol y sin tratamiento, la diferencia fue significativa ($P < 0.05$). Entre los

subgrupos F y H, tratado con albendazol y sin infestación no existió diferencia significativa. Las medias de los subgrupos E y H, tratado con netobimin y testigo limpio (sin infestación y tratamiento), no existió diferencia significativa. Por último, se observó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los subgrupos G (con infestación y sin tratamiento) y el subgrupo H (sin infestación y sin tratamiento) (el resumen de la diferencia de medias se puede observar en el cuadro 16).

Cuadro 15. Comparación de medias entre los subgrupos infestados con la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol

Grupo	Subgrupo	Test-T	Probabilidad	Significancia estadística
I	A vs B	0.058	$P > 0.40$	N.S.
I	A vs C	2.25	$p < 0.05$	**
I	A vs D	2.49	$p < 0.025$	***
I	B vs C	2.206	$p < 0.05$	**
I	B vs D	2.26	$p < 0.05$	**
I	C vs D	3.02	$p < 0.01$	***

Donde A= subgrupo tratado con netobimin
 B= subgrupo tratado con albendazol
 C= subgrupo infestado sin tratamiento
 D= Subgrupo no infestado y no tratado

Cuadro 16. Comparación de medias entre los subgrupos infestados con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol

Grupo	Subgrupo	Test-T	Probabilidad	Significancia estadística
II	E vs F	1.0	$p > 0.1$	N.S
II	E vs G	2.77	$p < 0.05$	**
II	E vs H	0.0	0	N.S.
II	F vs G	2.77	$p < 0.05$	**
II	F vs H	1.0	$p > 0.1$	N.S
II	G vs H	2.77	$p < 0.05$	**

Donde: E = Subgrupo tratado con netobimin
 F= Subgrupo tratado con albendazol
 G= Subgrupo infestado sin tratamiento
 H= Subgrupo no infestado y no tratado

IV. DISCUSION

La población de Haemonchus contortus resistente al albendazol fue sometida al diagnóstico de resistencia *in vitro* en el que los huevos de este parásito se expusieron a diferentes diluciones de albendazol confirmando así su nivel de resistencia. Por medio del análisis estadístico Probit, se obtuvieron los porcentajes de letalidad de la población resistente (0.469) y la población susceptible (0.023) y mediante una operación aritmética de división entre los dos valores, se estableció el índice de resistencia para la población 1HcRB (figura 2).

La población de Haemonchus contortus susceptible al

albendazol fue obtenida del rastro de ovinos y caprinos de Apaseo el Alto Gto. Sin embargo su multiplicación por medio de pases en ovinos y coprocultivos a nivel de laboratorio, requirió mayores cuidados en comparación con la población resistente, manifestando así el supuesto de que cuando no existe ningún contacto anterior con algún antihelmíntico, la población se mantiene susceptible. En comparación con las poblaciones resistentes, Kelly y colaboradores (51) mencionan desventajas de sobrevivencia para las fases libres y parásitas de las poblaciones susceptibles.

Whitlock (97) menciona que una población es susceptible cuando se presenta en la dilución más baja del antihelmíntico (0.1 ppm), hasta el 5% de desarrollo larvario. En el caso de la población susceptible Apaseo el Alto, la evolución a larvas eclosionadas nunca rebasó el 3% en la dilución 0.1 ppm (figura 3).

La manipulación de los ovinos durante la dosificación por vía oral fue realizada por las mismas personas, sin embargo se observó variación en el establecimiento de la infestación en ovinos del mismo subgrupo y con la misma población. Se considera que la utilización de otras vías alternativas de aplicación, como la intraruminal o la intra abomasal, podrían evitar esta variación. La dosificación de larvas L3 administradas en este trabajo para cada uno de los ovinos ($\pm 10,000$) se considera adecuada en virtud del peso y de la raza utilizada. Powers y colaboradores (80), recomiendan inóculos de 2,500 a 5,000 larvas infestantes de Haemonchus contortus, mientras que para inducir una buena

infestación experimental con este mismo género, Dobson y colaboradores (27) mencionan un número de 10,000 larvas infestantes. Lo más recomendable sin embargo debería ser tomando en cuenta el peso vivo de los individuos y aplicar determinada cantidad de larvas infestantes por kilogramo de peso.

Los mismos criterios fueron establecidos para la aplicación del tratamiento antihelmíntico, es decir la misma persona pesó y como en el caso de la infestación la misma persona administró la dosis recomendada por vía oral. La aplicación del tratamiento antihelmíntico estaba programada para el día 35 después de la infestación. Powers y colaboradores (73) mencionan como óptimo este periodo, sin embargo por causas ajenas al trabajo, el tratamiento fue pospuesto una semana más en ambos grupos. Se trató en todo momento que los cuidados fueran iguales para los ovinos en general.

El netobimin ha sido probado anteriormente en poblaciones de nematodos resistentes a los bencimidazoles. Steel y colaboradores en 1985 (87) utilizaron netobimin a dosis de 5, 10,15 y 20 mg/kg de peso en ovinos merino infestados artificialmente con Haemonchus contortus resistentes a los bencimidazoles, produciendo valores superiores al 90% de efectividad.

Se cuenta con una notificación de resistencia al netobimin en una población de Haemonchus contortus resistente a los bencimidazoles. Santiago y colaboradores en 1985 (80) compararon diferentes antihelmínticos en ovinos. La dosis probada de este

producto fue la misma que en el actual trabajo, es decir de 7.5 mg/kg de peso y su eficacia fue del 68%.

En poblaciones de Haemonchus contortus con elevados índices de resistencia a los bencimidazoles, Cabral y Schuette¹, sugieren al netobimin en ovinos a dosis de 10 mg/kg de peso. Herd y colaboradores (44) sobre el mismo tema recomiendan 20 mg/kg de peso para el mismo producto.

Otro trabajo que hace mención del netobimin en poblaciones de Haemonchus contortus resistentes a los bencimidazoles, es el realizado por Santiago y Shum en 1983 ² . Los autores aplicaron por vía oral en ovinos dosis de 5, 10 y 15 mg/kg de peso y observaron que la eficacia producida por estas dosis fueron respectivamente de 52, 54 y 72%. La consideración final de los autores es utilizar dosis mayores para las poblaciones resistentes, sin embargo Duncan y Shum ³ en 1983 mencionan síntomas de intoxicación por Netobimin en corderos sobre todo con la dosis de 10 mg/kg de peso a pesar del 100% de efectividad.

Se ha ensayado el netobimin en poblaciones de Haemonchus

¹ Cabral, P. Schuette, M.K.: Trial with Sch 32481 against hypobiotic Ostertagia spp larvae in cattle. Sch 32481 Inj. Copy 2- Book 4 of 4, Report, A-17575, Schering Corp. USA: 1-5 (1984).

² Santiago, M.A. and Shum, K.L.: Efficacy of Sch 32481 Injectable against adults helminths of calves. Report A-17162, Sch 32481 Inj. Copy 2 Book 4 of 4 Schering Corp. U.S.A.: 10-12 (1983).

³ Duncan, J.L., Shum, K.L.: Oral dose titration study of Sch 42481 in lambs. Reports, Tec. A-17070, Sch 32481 Oral Copy 1- Book 5 of 5, Schering Corporations. (1983).

contortus sin antecedentes de resistencia, sin embargo al concluir el trabajo se ha detectado resistencia parcial hacia este producto. Santiago y colaboradores (80) probaron en los ovinos dosis de 7.5 mg/kg de peso de netobimin. Al finalizar el trabajo la actividad del producto eliminó el 68.5% de los vermes.

Los resultados arrojados en el trabajo que nos ocupa, indican que los ovinos del grupo I, infestados con la población Haemonchus contortus resistentes al albendazol, presentaron para el netobimin en el subgrupo A una eficacia del 77.4% contra gusanos adultos, manifestando resistencia cruzada para este producto. La población resistente al albendazol manifestó esta característica contra el netobimin, a pesar de no haber estado en contacto nunca antes con el producto.

Powers y colaboradores (73) mencionan las pautas a seguir en la evaluación de la eficacia de los antihelmínticos en rumiantes. Por ejemplo los productos que provocan eficacias menores al 60% pueden ser considerados inefectivos. Los antihelmínticos que afectan entre el 60 y 80% de parásitos se les considera poco efectivos. Cuando la efectividad del producto se observa entre el 80% y 90%, el antihelmíntico se considera moderadamente eficaz. Por último, si la acción del antihelmíntico rebasa el 90%, la eficacia del producto se considera como elevada. En el caso particular del netobimin en este trabajo, la clasificación propuesta por los autores lo sitúan como un producto con baja efectividad (60% y 80%) contra Haemonchus contortus resistente al albendazol.

La característica de resistencia cruzada se basa en la diferencia química estructural del albendazol y del netobimin, es decir que pertenecen a diferentes grupos antihelmínticos.

La reducción en la eliminación de huevos en el subgrupo A 10 días después del tratamiento antihelmíntico utilizando netobimin a dosis de 7.5 mg/kg de peso por vía oral, en la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol fue del 98%. Algunos valores comparados con el presente trabajo muestran analogías. Es el caso de Steel y colaboradores que mencionan reducciones de huevos de heces del 93.6% y 99.8% con dosis diarias de 2 y 3 mg por kg de peso respectivamente.

Por lo que respecta al albendazol, su actividad contra poblaciones resistentes a los bencimidazoles, se manifestó en el subgrupo B en un 76.6% de eficacia, confirmando la calidad de resistencia de la población. La eliminación de gusanos adultos se considera como en el caso del netobimin, que el albendazol tiene un bajo nivel de eficacia contra esta población. Sin embargo la reducción del 93.8% de huevos por gramo de heces (hpg) después del tratamiento fue considerable.

En general en el grupo I infestado con la población resistente al albendazol, predominaron los gusanos machos sobre las hembras sin que la manifestación estadística fuera significativa.

En los ovinos del grupo II infestados con la población de Haemonchus contortus susceptibles al albendazol, la actividad

manifestada por el netobimin en el subgrupo E fue del 100%, es decir que no se encontraron parásitos adultos en los abomasos de los ovinos sacrificados. Resultados similares de 100% de eficacia observaron Herd y colaboradores (44) al utilizar dosis iguales que en el presente trabajo de 7.5 mg/kg de peso en ovinos infestados artificialmente con poblaciones de Haemonchus contortus susceptibles. Duncan y colaboradores (31), y Gonçalves y colaboradores (37) mencionan elevados niveles de eficacia como los que se muestran en este trabajo, para diferentes dosis de netobimin aplicadas en poblaciones susceptibles de Haemonchus contortus. Todos los porcentajes de eficacia mencionados con anterioridad y los propios de este trabajo, son comparados en la clasificación recomendada por Powers (73) y son incluidos en el más alto nivel de eficacia.

La reducción de huevos por gramo de heces en la población susceptible, después del tratamiento antihelmíntico a base de netobimin a dosis de 7.5 mg/kg de peso fue en el subgrupo E del 100%. Es decir que existió una alta correlación entre la eliminación de gusanos adultos y la reducción de huevos.

La eficacia del albendazol en el subgrupo F contra gusanos adultos de Haemonchus contortus susceptible a este mismo medicamento, fue en el presente trabajo del 97.8% a dosis de 3.8 mg/kg de peso. Se considera al albendazol, de acuerdo con Powers y colaboradores (73) como un producto con alto nivel de eficacia en poblaciones susceptibles como en este caso. Esta misma dosis fue

evaluada en 1980 por Craig y Shephera (22), la eficacia que se observó fue del 85%, sin embargo en el mismo trabajo la dosis de 7.5 mg/kg de peso, provocó el 99% de efectividad.

En el subgrupo F, infestado con la población susceptible al albendazol y tratado con el mismo producto, la eliminación de huevos por gramo de heces (hph) fue del 100%, utilizando una dosis de 3.8 mg/kg de peso.

En relación al sexo de los vermes adultos obtenidos al final del trabajo de investigación en el grupo II, infestado con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol, la diferencia de hembras y machos no fue significativa.

Existe información sobre el periodo prepatente que presenta Haemonchus contortus en ovinos. Vray y colaboradores (93) mencionan 20 días como tiempo regular, mientras que Powers y colaboradores (73) generalizan el periodo prepatente para la mayoría de los nematodos en un tiempo mínimo de de 21 a 28 días. Soulsby (84), en este mismo género difiere de los autores anteriores, afirmando que la prepatencia se lleva 15 días.

En base a la eliminación promedio de huevos, en el presente trabajo se pueden distinguir dos periodos (figura 4). En la población resistente, la eliminación de huevos se inició en la semana comprendida entre el día 14 y 21, en tanto que para la población susceptible, el final de la prepatencia fue observada entre el día 21 y 28. Es decir que la población resistente tiene un periodo

prepatente más corto que los individuos de la población susceptible. Con base a la información anterior, se puede establecer que las poblaciones utilizadas en este trabajo, se encuentran dentro del rango convencional. Sin embargo es obvio suponer que las poblaciones utilizadas por los autores mencionados eran diferentes como sucede en este mismo caso.

Es posible sin embargo, establecer diferencias significativas ($P < 0.05$), en la eliminación de huevos entre el grupo I, infestado por la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol, y el grupo II, con la población susceptible al mismo producto. Por lo tanto se puede pensar que la población resistente se establece con mayor fuerza y facilidad que la población susceptible (figura 4).

Por lo que respecta al comportamiento de los valores hemáticos en los ovinos del grupo I, el hematocrito al iniciarse la fase experimental no presentó diferencia significativa entre subgrupos, es decir que los cuatro subgrupos iniciaron con valores promedio entre 36.4% y 40.2%. Sin embargo, conforme fue transcurriendo el periodo de establecimiento de los parásitos en el hospedero, los valores del hematocrito en los subgrupos A, B y C, fueron descendiendo progresivamente hasta llegar a valores de 27% el menor y 28.2% el mayor. El subgrupo D testigo, no sufrió cambios significativos de la infestación hasta el sacrificio. Las diferencias en los valores del hematocrito entre los subgrupos infestados y el testigo sin infestación, se debe a la acción agresiva de la población resistente (51) (figura 4). El grupo II compuesto por los subgrupos,

E, F, G y H, no presentó diferencia significativa entre ellos, es decir los valores promedio iniciales de 35% disminuyeron a 29.6% en términos generales. Esto quiere decir que el efecto de la población inoculada no produce disminución significativa en los valores del hematocrito. Para el mismo parámetro, Coffin (18) sugiere como valores normales en ovinos entre el 33% y el 46%, sin mencionar raza, sexo o edad. Schalm (81) sin embargo con un criterio menos estricto amplía el rango entre 24% y 50% sin mencionar tampoco ninguna restricción. En el caso de este trabajo, los valores del hematocrito en el grupo I y grupo II se ajustan a la escala de 24% a 50% sugerida por Schalm (81) en el momento de la infestación, más no alcanzan los niveles superiores normales que sugiere Coffin (18) al momento del sacrificio (figura 4).

Tomando en cuenta dos tiempos, uno al momento de la infestación artificial y otro al momento del sacrificio, el hematocrito en el grupo I y el grupo II no mostraron diferencias significativas entre sí en el primer tiempo. Así mismo, no se registraron diferencias estadísticas entre los dos grupos cuando se compararon en el tiempo dos. Existieron manifestaciones estadísticas sobre todo en el grupo I, sin embargo al ser evaluado el daño clínico, las manifestaciones del hematocrito no fueron alteradas manteniéndose dentro del rango normal.

La trayectoria trazada por los valores medios de la hemoglobina entre los ovinos del grupo I, indican por un lado un comportamiento parejo de los subgrupos A, B, C y D al inicio del

periodo experimental. En la tercera semana los ovinos de los subgrupos A, B y C sufren un decremento en la hemoglobina, manteniéndose los valores constantes a partir de entonces, hasta el final. El subgrupo testigo presentó valores entre 12.5 y 13 gr de hemoglobina por 100 ml de sangre. Estos valores siempre fueron superiores a los presentados por los subgrupos A, B y C, con los cuales existen diferencias ampliamente significativas (***). Esta diferencia obvia se debe a la acción de la población inoculada en los subgrupos A, B y C y la ausencia de esta en el subgrupo D testigo (Figura 5).

Al igual que el grupo I, los valores de la hemoglobina al iniciar la etapa experimental en el grupo II, los cuatro subgrupos mostraron, en general un rango entre 11.0 y 12.5 g de hemoglobina por 100 ml de sangre. En la cuarta semana se observó un ligero descenso en los ovinos de los subgrupos inoculados con la población de Haemonchus contortus susceptible al albendazol, sin embargo en ningún momento del experimento el decaimiento fue significativo al ser comparado con el subgrupo testigo. El rango promedio de la hemoglobina en los subgrupos del grupo II, incluyendo el subgrupo testigo fueron al inicio del experimento entre 10.8 y 12.3 gr por 100 ml de sangre, al final del mismo los valores se mantuvieron entre 10.2 y 11.0 gr por 100 ml de sangre. Como se puede observar no se presentaron diferencias marcadas entre los integrantes de este grupo. Esto indica que la acción de la población susceptible no produce reducciones significativas de hemoglobina en los individuos que la contienen (figura 6).

Comparando los valores de la hemoglobina entre los grupos I y II, no se observaron diferencias estadísticas entre ellos así como tampoco se observaron diferencias entre los subgrupos de cada uno. Schalm (81) muestra valores para la hemoglobina entre 8 y 16 gr/100ml de sangre, mientras que Coffin (18) menciona valores entre 9.0 y 14.0 gr/100ml. Los autores difieren levemente en los rangos de la hemoglobina, sin embargo no mencionan restricciones en cuanto a raza, sexo o edad. En cualquiera de los casos, los valores aquí señalados no rebasan los valores inferiores ni superiores que los autores recomiendan (figura 5 y 6). En términos generales el efecto de la hemoncosis experimental no alteró clínicamente los niveles de hemoglobina en los ovinos.

Los valores promedio de proteínas plasmáticas en los ovinos del grupo I no mostraron diferencias importantes al momento de iniciar el trabajo experimental, para la cuarta semana los valores sufrieron un incremento repentino, sin embargo al finalizar el periodo fue notoria y significativa la separación entre los subgrupos A, B y C infestados con la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol y el subgrupo testigo D. Se puede decir que la acción del agente patógeno disminuye los valores de las proteínas plasmáticas en los ovinos que los contienen. El incremento de los valores durante la cuarta semana es una reacción que se lleva a cabo como consecuencia de la concentración de los elementos del plasma al ser absorbida una cantidad considerable de sangre por los nematodos (figura 7).

En el grupo II, las proteínas plasmáticas no mostraron diferencia alguna entre los ovinos de los subgrupos E, F, G y H al inicio del trabajo experimental. Durante las siguientes dos semanas, se observó una disminución de los valores en forma general, incrementándose nuevamente en la cuarta semana como ocurrió en los subgrupos del grupo I. En las siguientes dos semanas los valores sufrieron variaciones, al momento del sacrificio se pudo observar que los cuatro subgrupos se comportaron de manera similar, encontrándose sólo una relación significativa entre el subgrupo E y el subgrupo testigo H (figura 8).

El comportamiento del grupo I y el grupo II, no fue muy parejo a lo largo de la etapa experimental. Los resultados del primer muestreo al momento de infestar los ovinos, el segundo y al sacrificio de los ovinos demostraron una diferencia significativa entre ambos grupos. Se considera sin embargo que las diferencias estadísticas no tienen repercusión en el aspecto clínico, puesto que los valores promedio observados en los ovinos experimentales se encuentran dentro del rango normal.

La cantidad de leucocitos fueron determinadas en forma global, sin llevar a cabo ninguna diferenciación. Los ovinos del grupo I mostraron un comportamiento similar a través del periodo experimental y al final no se observaron diferencias entre ninguno de los integrantes de este grupo. Se puede decir que la infestación experimental causada por Haemonchus contortus resistente al albandazol, no produce efectos estadísticamente significativos en

las cuentas leucocitarias de ovinos que la contienen (figura 9). Así mismo, no existieron variaciones de tipo clínico en los ovinos de los dos grupos. Los valores observados para este parámetro se mantuvieron dentro de la clasificación normal.

En el grupo II, los ovinos de los subgrupos E, F, G y H se comportaron de manera similar, sin embargo al finalizar el periodo experimental se pudo establecer una sola asociación altamente significativa entre el subgrupo E infestado con la población y el subgrupo H testigo sin infestación. En este caso la población manejada sí afectó estadísticamente la cuenta leucocitaria del subgrupo E (figura 10). Al compararse los valores con las clasificaciones que menciona Schalm (81) y Coffin (18) se pudo establecer que clínicamente los valores se encuentran dentro del rango normal, es decir entre los 4 000 y 12 000 leucocitos por mm^3 .

En relación al comportamiento de las cuentas de eritrocitos en el grupo I, los valores de los subgrupos A, B y C descendieron progresivamente al final del periodo experimental. El subgrupo D no sufrió cambios significativos a lo largo de esta etapa. Por lo tanto estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas entre el subgrupo testigo D y los subgrupos A, B y C. Medicamente estas diferencias no son trascendentales, en virtud de que los valores al ser comparados con las clasificaciones mencionadas por Coffin (18) y Schalm (81) no excluyen a estos de los valores normales.

Para el grupo II, las cuentas eritrocíticas no mostraron

diferencias estadísticas importantes, así mismo el comportamiento de los datos fue normal clínicamente encontrándose los valores entre 8.5 y 13.5 millones/mm³. En general los valores de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas, leucocitos y eritrocitos se comportaron clínicamente dentro del rango normal tanto en la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol como en la población susceptible.

V. CONCLUSIONES

a) El netobimin a la dosis de 7.5 mg/kg por vía oral, fue poco efectivo contra gusanos adultos de la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol, en virtud que presentó entre el 60% y 80% de eficacia, lo que lo sitúa en la clasificación de baja efectividad. Sin embargo se manifestó como altamente eficaz contra la población susceptible al albendazol al producir una eficacia superior al 90%.

b) El albendazol a la dosis de 3.8 mg/kg de peso por vía oral fue poco efectivo contra la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol, en virtud que presentó entre el 60% y 80% de eficacia, lo que lo sitúa en la clasificación de baja efectividad. Sin embargo fue altamente efectivo contra los adultos de la población susceptible al albendazol al producir una eficacia superior al 90%.

c) La población de Haemonchus contortus resistente al albendazol manifestó resistencia cruzada para el netobimin.

d) El netobimin redujo significativamente el número de huevos por gramo de heces en la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol así como en la población susceptible.

e) El período prepatente fue una semana más corta en la población de Haemonchus contortus resistente al albendazol, sin embargo las dos poblaciones se comportaron dentro del período normal.

f) Los parámetros hemáticos de los ovinos experimentales no fueron alterados clínicamente a causa de la infestación con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol.

Figura 1. Estructura química y núcleo común de los antihelmínticos del grupo de los bencimidazoles

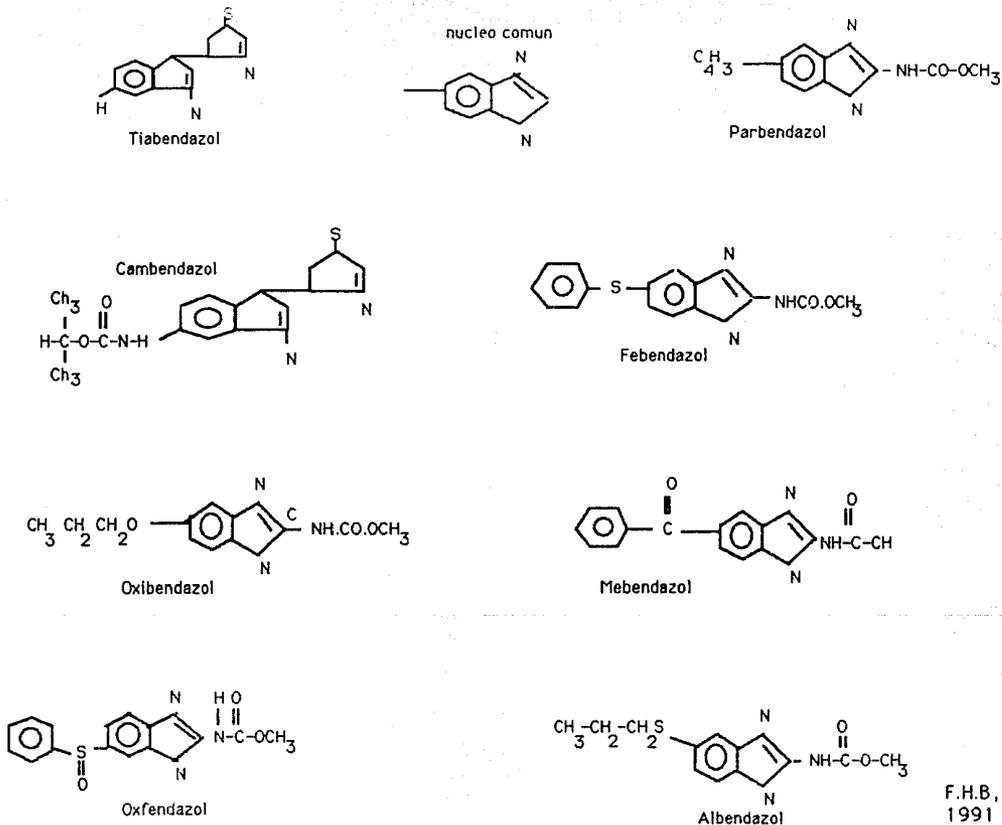
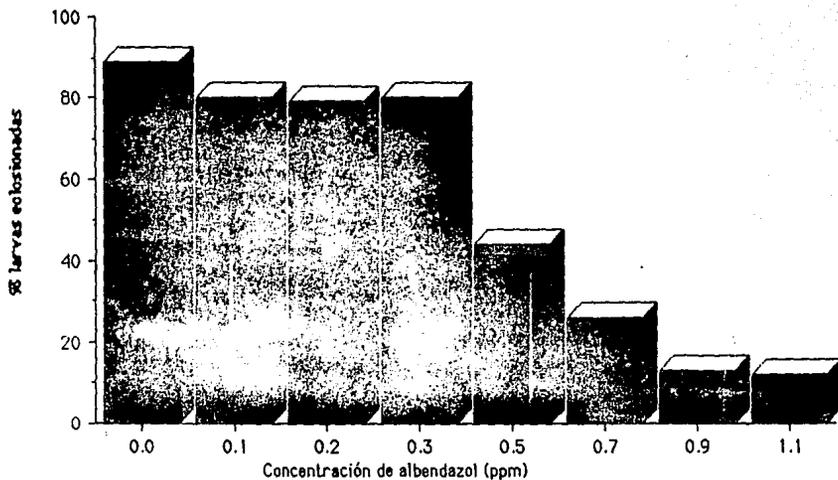
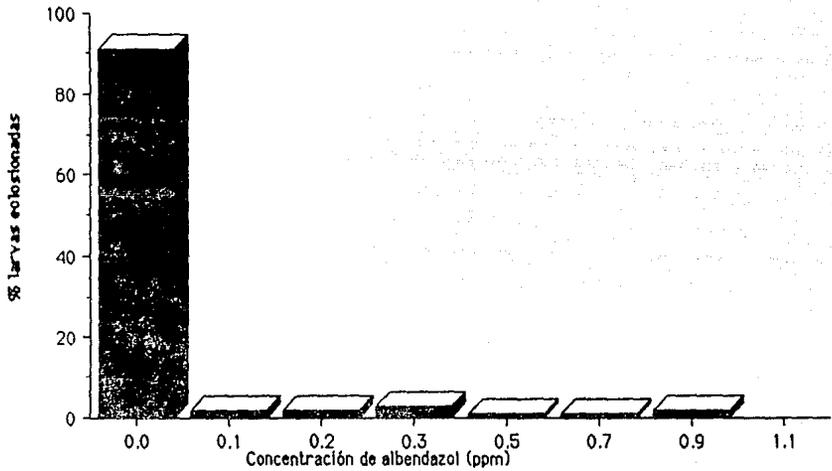


Figura 2. PRUEBA *in vitro* APLICADA A HUEVOS DE H. contortus RESISTENTES AL ALBENDAZOL



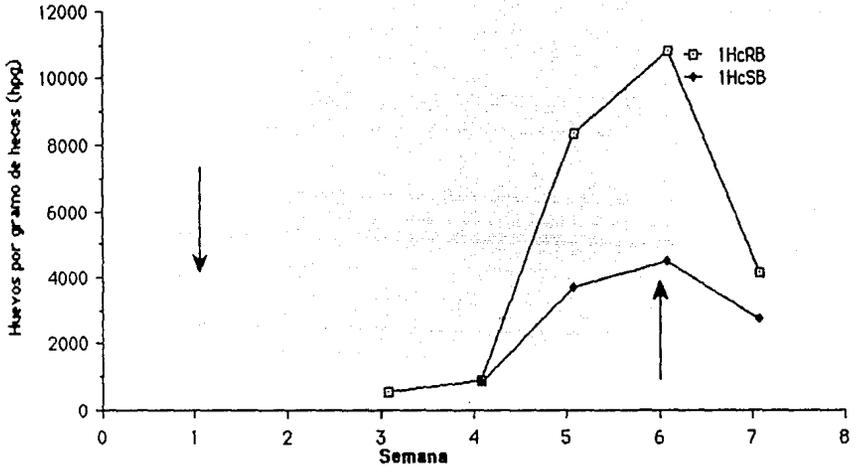
(F.H.B., 1991)

Figura 3. PRUEBA *in vitro* APLICADA A HUEVOS DE H. contortus SUSCEPTIBLE AL ALBENDAZOL



(F.H.B., 1991)

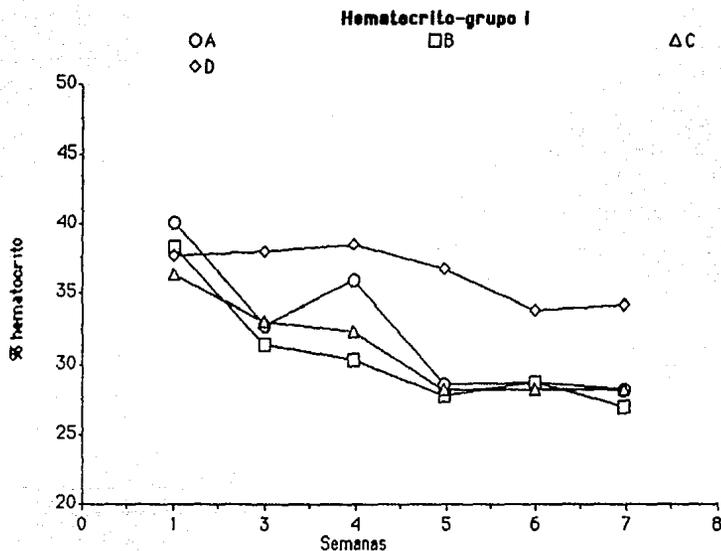
Figura 4. Huevos eliminados pre y postratamiento en las poblaciones de H. contortus resistentes y susceptibles al albendazol



(F.H.B., 1991)

Donde ↓ = Infestación de los ovinos
 ↑ = Tratamiento antihelmíntico
 1HcRB = Población de H. contortus resistente al albendazol
 1HcSB = Población de H. contortus susceptible al albendazol

Figura 5. Valores del hematocrito en el grupo I infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol

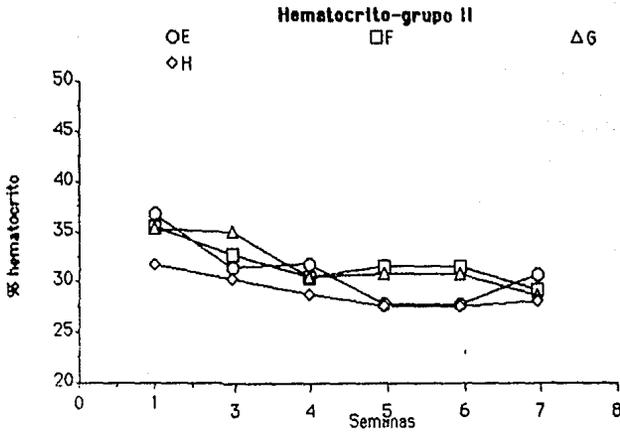


(F.H.B., 1991)

Donde:

- A= subgrupo tratado con albendazol
- B= subgrupo tratado con netobimín
- C= subgrupo sin tratamiento
- D= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 6. Valores del hematocrito en el grupo II infestado con Haemonchus contortus susceptible al albendazol

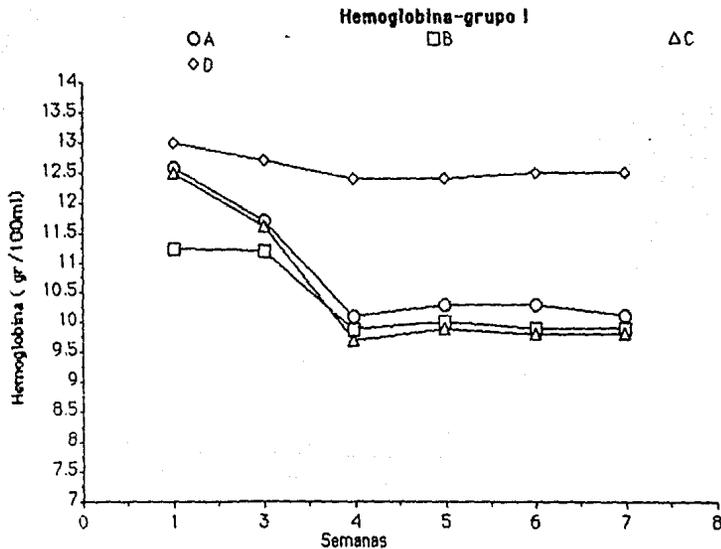


(F.H.B., 1991)

Donde:

- E= subgrupo tratado con albendazol
- F= subgrupo tratado con netobimín
- G= subgrupo sin tratamiento
- H= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 7. Valores de la hemoglobina en el grupo I infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol

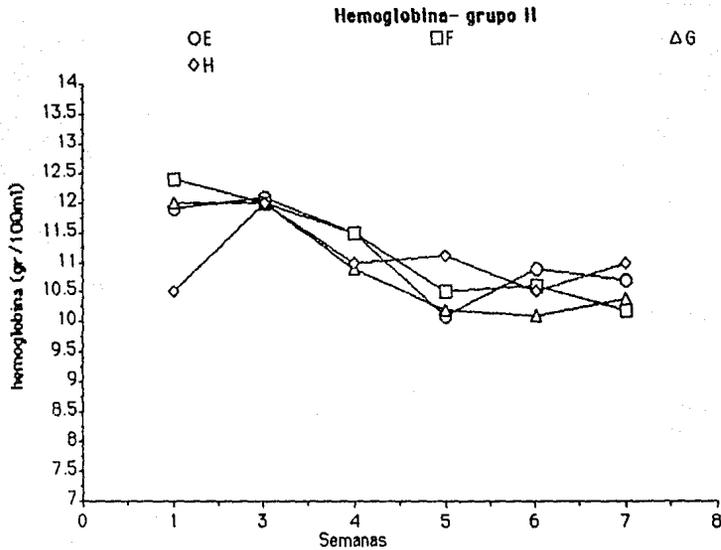


(F.H.B., 1991)

Donde:

- A= subgrupo tratado con albendazol
- B= subgrupo tratado con netobimín
- C= subgrupo sin tratamiento
- D= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 8. Valores del hemoglobina en el grupo II infestado con Haemonchus contortus susceptible al albendazol

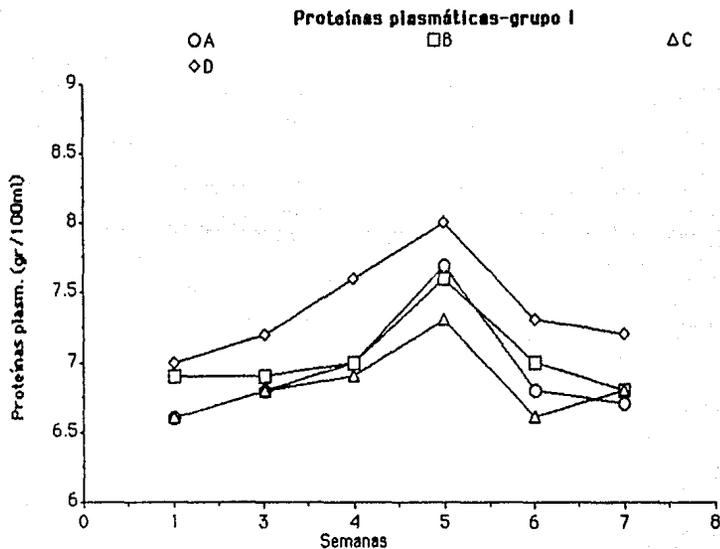


(F.H.B., 1991)

Donde:

- E= subgrupo tratado con albendazol
- F= subgrupo tratado con netobimín
- G= subgrupo sin tratamiento
- H= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 9. Valores de las proteínas plasmáticas en el grupo I infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol

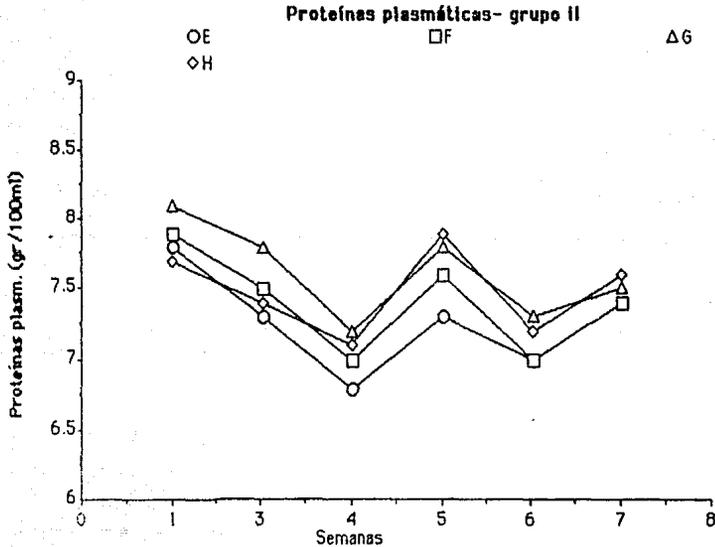


(F.H.B., 1991)

Donde:

- A= subgrupo tratado con albendazol
- B= subgrupo tratado con netobimín
- C= subgrupo sin tratamiento
- D= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

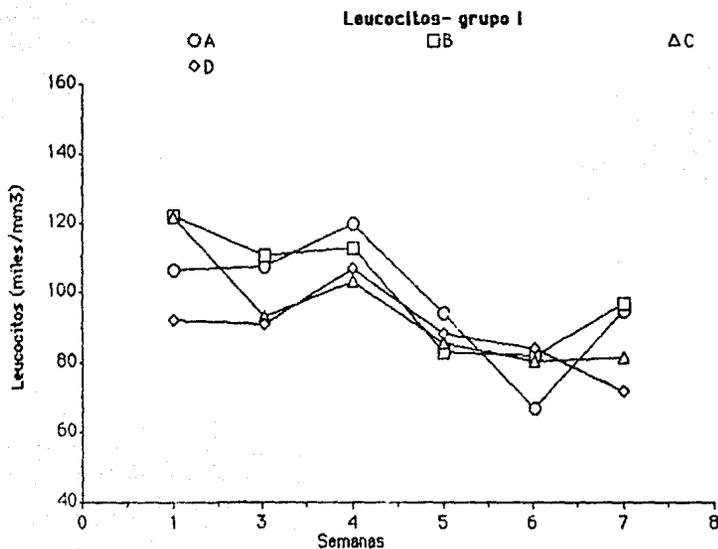
Figura 10. Valores de las proteínas plasmáticas en el grupo II infestado con Haemonchus contortus susceptible al albendazol



(F.H.B., 1991)

Donde:
 E= subgrupo tratado con albendazol
 F= subgrupo tratado con netobimín
 G= subgrupo sin tratamiento
 H= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 11. Valores de las cuentas leucocitarias en el grupo I infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol

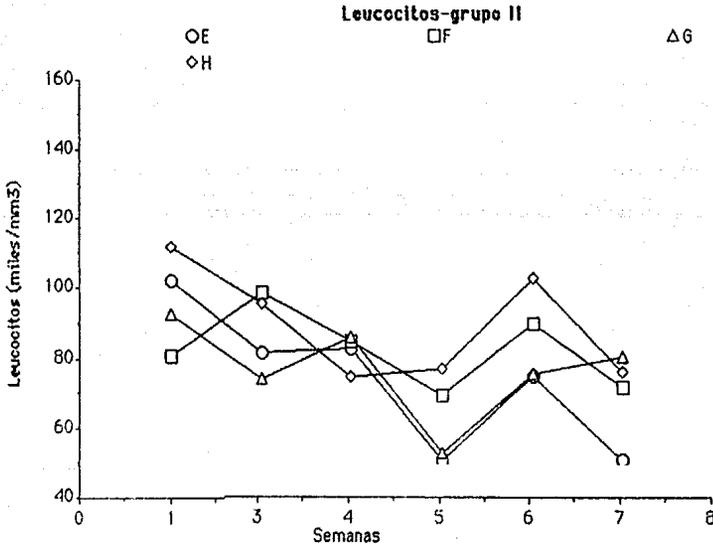


(F.H.B., 1991)

Donde:

- A= subgrupo tratado con albendazol
- B= subgrupo tratado con netobimín
- C= subgrupo sin tratamiento
- D= subgrupo sin infección y sin tratamiento

Figura 12. Valores de la cuenta leucocitaria en el grupo II infestado con Haemonchus contortus susceptible al albendazol

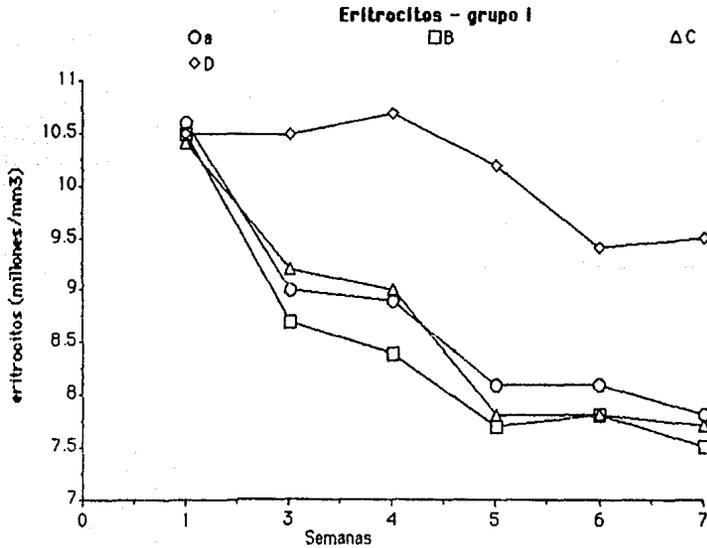


(F.H.B., 1991)

Donde:

- E= subgrupo tratado con albendazol
- F= subgrupo tratado con netobimín
- G= subgrupo sin tratamiento
- H= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 13. Valores de las cuentas de eritrocitos en el grupo I Infestado con Haemonchus contortus resistente al albendazol

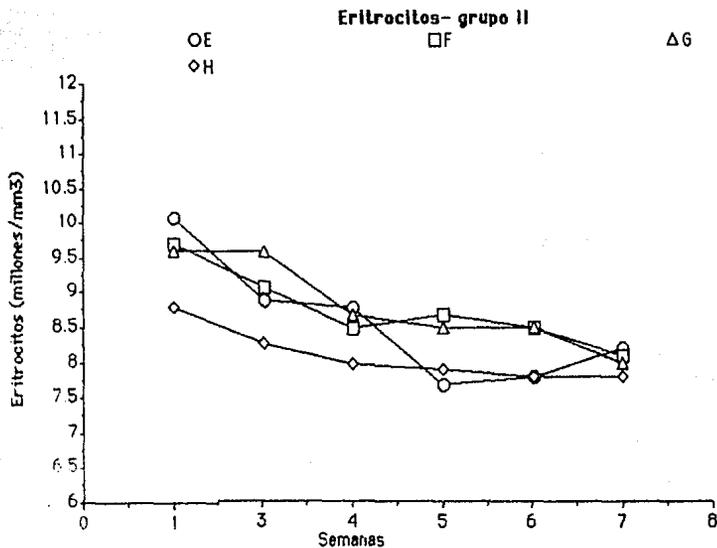


(F.H.B., 1991)

Donde:

- A= subgrupo tratado con albendazol
- B= subgrupo tratado con netobimín
- C= subgrupo sin tratamiento
- D= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Figura 14. Valores de las cuentas de eritrocitos en el grupo II infestado con Haemonchus contortus susceptible al albendazol



(F.H.B., 1991)

Donde:

E= subgrupo tratado con albendazol

F= subgrupo tratado con netobimín

G= subgrupo sin tratamiento

H= subgrupo sin infestación y sin tratamiento

Cuadro 7 Valores promedio de hpgg de Haemonchus contortus para los grupos I y II pre y postratamiento

Semana	1	2	3	4	5	6	7
Inoculación de las poblaciones	1HcRB 1HcSB						
Tratamiento antihelmíntico						*	
Grupo subgrupo	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
I	A		730	990	10850	12720	783
	B		140	470	10880	15160	270
	C		530	1170	10910	14750	14850
	D		0	0	0	0	0
II	E			1110	3940	6330	0
	F			200	4740	4860	0
	G			1070	5320	5920	10200
	H			0	0	0	0

Donde \bar{x} = media aritmética

(F.H.B., 1991)

Cuadro 8. Valores promedio de la hematocrito (%) en ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol

Muestreo No	1	2	3	4	5	6
Inoculación	*					
Tratamiento antihelmíntico						**
Grupo Subgrupo	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.
I A	40.2 ± 6.2	32.8 ± 2.5	36.0 ± 5.2	28.6 ± 3.0	28.8 ± 3.7	28.2 ± 4.1
I B	38.4 ± 2.7	31.4 ± 4.4	30.4 ± 2.4	27.8 ± 5.0	28.8 ± 3.5	27.0 ± 4.0
I C	36.4 ± 4.9	33.0 ± 3.1	32.4 ± 5.6	28.2 ± 2.6	28.2 ± 3.7	28.2 ± 2.5
I D	37.8 ± 15.7	38.0 ± 1.8	38.5 ± 2.9	36.8 ± 1.8	33.8 ± 3.7	34.2 ± 3.3
II E	36.5 ± 1.3	31.2 ± 6.8	32.0 ± 0.8	30.7 ± 2.8	30.7 ± 2.8	30.2 ± 2.5
II F	35.5 ± 1.3	32.7 ± 4.1	30.5 ± 1.9	31.5 ± 1.7	31.5 ± 1.7	29.2 ± 1.7
II G	35.2 ± 2.5	35.0 ± 1.4	30.5 ± 0.6	30.7 ± 0.5	30.7 ± 0.5	28.7 ± 0.9
II H	32.7 ± 1.5	30.5 ± 6.2	29.5 ± 3.1	31.5 ± 2.4	31.5 ± 2.4	30.2 ± 2.6

Donde: * = Infestación de los ovinos experimentales

** = Tratamiento antihelmíntico

\bar{x} = Media aritmética

d.e. = Desviación estandar

(F.H. B., 1991)

Cuadro 9. Valores promedio de la hemoglobina (g/100ml) en ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol

Muestreo No	1	2	3	4	5	6
Inoculación	*					
Tratamiento antihelmíntico						**
Grupo Subgrupo	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.
I A	12.6 ± 1.4	11.7 ± 1.0	10.1 ± 1.5	10.3 ± 1.4	10.3 ± 1.3	10.1 ± 1.4
I B	10.8 ± 1.3	11.2 ± 1.0	9.9 ± 2.2	10.0 ± 1.5	9.9 ± 1.1	9.9 ± 1.7
I C	12.5 ± 0.7	11.6 ± 0.9	9.7 ± 1.2	9.9 ± 1.1	9.8 ± 1.1	9.8 ± 1.0
I D	13 ± 0.0	12.7 ± 0.4	12.4 ± 0.5	12.4 ± 0.2	12.5 ± 0.7	12.5 ± 0.7
II E	11.7 ± 0.5	12.0 ± 0.0	11.6 ± 0.2	10.1 ± 0.5	10.6 ± 0.8	10.3 ± 0.9
II F	12.3 ± 0.2	12.0 ± 1.0	11.5 ± 0.7	10.5 ± 0.6	10.6 ± 0.5	10.2 ± 0.8
II G	12.0 ± 0.0	12.0 ± 0.4	11.12 ± 0.6	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.2	10.3 ± 0.5
II H	10.8 ± 0.8	12.0 ± 1.5	11.5 ± 0.5	11.1 ± 0.5	10.8 ± 0.9	11.0 ± 0.9

Donde: * = Infestación de los ovinos experimentales

** = Tratamiento antihelmíntico

\bar{x} = Media aritmética

d.e. = Desviación estandar

(F.H. B., 1991)

Cuadro 10. Valores promedio de proteínas plasmáticas (gr/100ml) en ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol

Muestreo No	1	2	3	4	5	6
Inoculación	*					
Tratamiento antihelmíntico						**
Grupo Subgrupo	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.
I A	6.6 ± 0.2	6.8 ± 0.4	7.0 ± 0.6	7.8 ± 0.4	6.8 ± 0.6	6.7 ± 0.4
I B	6.9 ± 0.7	6.9 ± 0.3	7.0 ± 0.3	7.6 ± 0.4	6.9 ± 0.5	6.8 ± 0.5
I C	6.6 ± 0.3	6.7 ± 0.2	6.9 ± 0.4	7.3 ± 0.3	6.6 ± 0.4	6.8 ± 0.4
I D	7.0 ± 0.4	7.2 ± 0.5	7.6 ± 0.4	7.9 ± 0.4	7.3 ± 0.4	7.2 ± 0.4
II E	7.8 ± 0.1	7.3 ± 0.2	6.8 ± 0.2	7.3 ± 0.3	7.0 ± 0.4	7.4 ± 0.4
II F	7.9 ± 0.3	7.5 ± 0.5	7.0 ± 0.2	7.02 ± 0.1	7.0 ± 0.2	7.4 ± 0.3
II G	8.1 ± 0.3	7.8 ± 0.2	7.2 ± 0.4	7.8 ± 0.5	7.3 ± 0.2	7.5 ± 0.2
II H	7.7 ± 0.6	7.7 ± 0.6	7.3 ± 0.4	7.9 ± 0.2	7.2 ± 0.4	7.6 ± 0.4

Donde: * = Infestación de los ovinos experimentales

** = Tratamiento antihelmíntico

\bar{x} = Media aritmética

d.e. = Desviación estandar

(F.H. B., 1991)

Cuadro 11. Valores promedio de leucocitos (miles/mm³) en ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al albendazol

Muestreo No		1	2	3	4	5	6
Inoculación		*					
Tratamiento* antihelmintico							**
Grupo Subgrupo		\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.
I	A	10.6 ± 3.6	10.8 ± 2.7	12.0 ± 3.4	9.5 ± 2.5	6.7 ± 3.6	9.5 ± 2.9
I	B	12.2 ± 2.2	11.2 ± 2.1	11.3 ± 2.4	8.3 ± 3.1	8.2 ± 2.2	9.7 ± 2.6
I	C	12.2 ± 2.1	9.3 ± 1.6	10.3 ± 1.9	8.6 ± 1.4	8.0 ± 1.5	8.2 ± 2.8
I	D	9.2 ± 1.8	9.1 ± 1.8	10.7 ± 2.6	8.8 ± 1.9	8.4 ± 1.6	7.2 ± 1.4
II	E	10.2 ± 2.5	8.2 ± 1.2	8.3 ± 3.2	5.1 ± 2.6	7.5 ± 2.0	6.1 ± 2.3
II	F	8.1 ± 1.0	9.9 ± 4.7	8.5 ± 1.6	6.9 ± 2.7	9.0 ± 1.0	7.2 ± 1.5
II	G	9.2 ± 1.2	7.4 ± 2.1	8.6 ± 1.5	5.3 ± 2.4	7.5 ± 2.8	8.0 ± 4.7
II	H	11.2 ± 2.2	9.6 ± 1.5	7.5 ± 1.1	7.7 ± 0.9	10.3 ± 3.6	7.6 ± 1.3

Donde: * = Infestación de los ovinos experimentales

** = Tratamiento antihelmintico

\bar{x} = Media aritmética

d.e. = Desviación estandar

(F.H. B., 1991)

Cuadro 12. Valores promedio de eritrocitos (millones/mm³) en ovinos infestados con Haemonchus contortus resistentes y susceptibles al aibendazol

Muestreo No	1	2	3	4	5	6
Inoculación	*					
Tratamiento antihelmíntico						**
Grupo Subgrupo	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.	\bar{x} d.e.
I A	10.6 ± 1.7	9.0 ± 0.7	9.3 ± 1.4	8.1 ± 0.8	8.1 ± 1.0	7.8 ± 1.1
I B	10.5 ± 0.7	8.7 ± 1.2	8.4 ± 0.6	7.7 ± 1.3	7.8 ± 0.9	7.5 ± 1.1
I C	10.4 ± 1.3	9.2 ± 0.8	9.0 ± 1.5	7.8 ± 0.7	7.8 ± 1.0	7.7 ± 0.7
I D	10.5 ± 4.3	10.5 ± 0.5	10.7 ± 0.8	10.2 ± 0.5	9.4 ± 1.0	9.5 ± 0.9
II E	10.1 ± 0.1	8.9 ± 1.6	8.8 ± 0.2	7.7 ± 2.0	7.8 ± 2.0	8.2 ± 0.7
II F	9.7 ± 0.3	9.1 ± 1.1	8.5 ± 0.5	8.7 ± 0.5	8.5 ± 0.5	8.1 ± 0.5
II G	9.6 ± 0.3	9.6 ± 0.4	8.7 ± 0.2	8.5 ± 0.1	8.5 ± 0.1	8.0 ± 0.3
II H	8.8 ± 0.6	8.3 ± 1.5	8.0 ± 0.8	7.9 ± 2.5	7.8 ± 2.5	7.8 ± 1.4

Donde: * = Infestación de los ovinos experimentales

** = Tratamiento antihelmíntico

\bar{x} = Media aritmética

d.e. = Desviación estandar

(F.H. B., 1991)

BIBLIOGRAFIA

1. Actor, P. Anderson, E.J. Di Cuollo, C.J., Ferlanto R.J. and al.: New broad spectrum anthelmintic, Methil 5(6)-butyl-2 bencimidazol carbamate. Nature **215**: 321-322 (1967).
2. Albers, G.A.A., Gray, G.D., Le Jambre, L.F., Barger, I.A. and Barker, J.S.F.: The effect of Haemonchus contortus infection on haematological parameters in young merino sheep and its significance for productivity. Anim. Prod. **50**: 99-109 (1990).
3. Altaif, K.I., Dargie, J.D.: Genetic resistance to helminths: The influence of breed and haemoglobin type on the response of sheep to primary infections with Haemonchus contortus. Parasitology **77**: 161-175 (1978).
4. Altaif, K.I., Dargie, J.D.: Genetic resistance to helminths: the influence of breed and haemoglobin type on the response of sheep to reinfection with Haemonchus contortus. Parasitology **77**: 177-187 (1978).
5. Arundel, J.H.: Resistance in nematodes to anthelmintic drugs. CSIRO, División of Animal Health. Australia Wool Corporation. Australia, (1985).
6. Baker, N.F., Douglas, J.R., Fisk, R.A.: Anthelmintic activity of Haloxon in calves with parasitic gastroenteritis. Am. J. Vet. Res. **30** (12): 2233-2235, (1969).
7. Benz, G.W. and Ernest, J.V.: Antihelmintic activity of albendazole against gastrointestinal nematodes in calves. J. Am. Vet. Res. **38**(9): 1425-1426 (1977).

8. Berger, J.: Oxfendazole: Anthelmintic activity in sheep artificially infected with nematodes. Results of trails against nine species including Bencimidazole-resistant Haemonchus contortus. J. of the South-African Vet. Association. 51(1): 51-58 (1980).
9. Bezubick, B. Stankiewilz, Y.M., Byszewska-Szpoci-Ka, E. : Inmological studies on experimental single in sheep. Act. Parasitol. Pol. 26: 91-93 (1987).
10. Brown, H.D. Matzuk, A.R., lves, I.R. y al.: Anthelmintics drugs IV. 2- (4-thiazolyl)-bencimidazole, a new anthelmintic. J. Am. Chem. Soc. 83 (7): 1764-1765 (1965).
11. Burg, R.W. Miller, B.M., Baker, E.E. y al.: Avermectins, new family of potente anthelmintic agents: Producing organism and fermentation. Antimicrob. Agents Chemother. 15 (3): 361-367 (1979).
12. Callinan, A.P.L. and Cummins, L.J.: Efficacy of anthelmintics against cattle nematodes. Australian Vet. J. 55: 370-373 (1979).
13. Campos, R.R.: Diagnóstico de nematodos del tracto gastroentérico resistentes a los antihelmínticos. Diagnóstico de helmintos y hemoparásitos de rumiantes. Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A.C. (1989).
14. Campos, R.R.: Resistencia de Haemonchus contortus a los bencimidazoles en ovinos de México. Tesis de Maestría, Fac. de Med. Vet. y Zoot.. UNAM, México D.F., 1989.
15. Campos, R.R. : Resistencia a los bencimidazoles : un problema latente en la terapia antihelmíntica de los ovinos. Sociedad Mexicana de Parasitología, 25 Aniversario, Soc. Mex. Paras. 1: 375-391 (1985).

16. Campos, R.R., Herrera, R.D., Quiroz, R.H. y Olazarán J. S.: Primera notificación en México de una cepa de Haemonchus contortus resistente a los bencimidazoles. Memorias de la VIII reunion anual de Parasitología Veterinaria. Cuernavaca, As. Mex. Paras. Parasit. Vet.: 31 (1987).
17. Clordia, H.: Activity of a feed premix and crumbles containing in the control of gastro intestinal parasites of cattle. Am. J. Vet. Res. 33 (3): 623-626 (1967).
18. Coffin, D.L.: Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. 3° ed. La Prensa Médica Mexicana. México, D.F. (1977).
19. Colglazier, M.L., Kates, K.L. and Enzie, F.D.: Cross-resistance to other anthelmintics in an experimentally produced cambendazole-resistant strain of Haemonchus contortus in lambs. J. Parasitol. Vol. 61. 4: 778 (1975).
20. Cordero del Campillo, M., Diez Baños, P. Reguera Feo, A., Rojo Vazquez, F.A.: Critical experiments with albendazole in the treatment of protostrongylid infection on sheep. Rev. Ibérica de Parasitología. Vol. Extra: 543-553 (1982).
21. Cox, D.D. Mullee, M.T., Allen, A.D.: Anthelmintic activity of two organic phosphorus compounds, coumaphos and naphthalophos, against gastrointestinal nematodes of cattle. Am. J. Vet. Res. 28 (122): 79-88 (1967).
22. Craig, T.M. and Shepherd, E.: Efficacy of albendazole and levamisole in sheep against Thysanosoma actinoides and Haemonchus contortus from the Edwards Plateau. Texas. Am. J. Vet. Res. 41 (3): 425-426 (1980).
23. Dash, K.M.: Multiple anthelmintic resistance in Trichostrongylus colubriformis. Aust. Vet. J. 63 (2): 45-47 (1986).

24. Delegación Mexicana: Estimación de pérdidas económicas por enfermedades en la ganadería mexicana durante el año de 1980. Bull. Off. Int. Epiz. 93 (5-6): 903-915 (1981).
25. Díaz-Barriga, F. y Sabanero, M.: Biología celular. Aspectos fundamentales. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. y Alhambra Mexicana S.A. México (1986).
26. Díez baños, P., Cordero del Campillo, M., Rojo Vazquez, F. A. y Díez Baños, N.: Pruebas controladas con Trichostrongylidae. An. Fac. Vet. Leon. 25: 199-213 (1979).
27. Dobson, R.J., Donald, A.D., Waller, P.J. and Snowdon, K.L.: An egg-hatch assay for resistance to levamisole in Trichostrongylid nematode parasites. Vet. Parasitol. 19: 77-84 (1986).
28. Douglas, J.R., Baker, N.F., Longhurst, W.M.: The relationship between particle size and anthelmintic efficacy of Phenothiazine. Am. J. Vet. Res. 17: 318-323 (1956).
29. Downey, N.E. and O'shea, J.: Netobimin (totabin Sch) Efficacy in cattle in Ireland. 11th conference World Association for the advancement of Veterinary Parasitology Abstracts, Brazil. : 32 (1985).
30. Drudge, J.H., Leland, S.E. and Wyant Z.N.: Strain variation in the response of sheep nematodes to the action of phenothiazine. I. Studies of mixed infections in experimental animals. Am. J. Vet. Res. : 133 (1957).
31. Duncan, J.L., Armour, J. and Bairden, K.: Netobimin (totabin Sch) Efficacy in ruminants in U.K. 11th conference World Association for the advancement of Veterinary parasitology Brazil. : 31 (1985).

32. Dustin, P.: Microtubulos. Scientific American. **49**: 78-86 (1980).
33. Edwards, J.R. and De Chaneet, G.: Resistance of Haemonchus contortus to thiophanate. Res. Vet. Sc. **29**: 370-372 (1980).
34. Egerton, J.R. , Birnbaum, J. Blair , I.S. and al.: 22-23-Dihydroavermectin B, a new broad-spectrum antiparasitic agent. British Veterinary Journal. **136** (1): 88-97 (1980).
35. Everkin, E.A., Beard, C.C., Brorak, C.A. and al.: Methyl 5-(6)-phennyl-sulfinyl-2-bencimidazol carbamate. A new potente anthelmintic. J. Med. Chem. **18**: 1164-1166 (1975).
36. Gibson, T.E.: Advances in veterinary anthelmintic medication. Advances in parasitology. **349-373** (1969).
37. Goncalves, P.C., Pinheiro, J., Echeverria, F. Macedo, G. and Risch, A.: Netobimin (totabin Sch) Efficacies ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. 11th conference for the advancement of Veterinary Parasitology. : **32** (1985).
38. Gordon, H. Mcl.: The influence of particle size on -the anthelmintic efficiency of phenothiazine in sheep. Aust. Vet. J. **52** (10): 258-268 (1956).
39. Gruner, L., Kerboeuf, D. Beaumont, C. and Hubert, J.: Resistance to bencimidazole of Haemonchus contortus utkalensis in sheep on Martinique. Vet. Record. **118**: 276 (1986).
40. Hall. C.A. and Mc Donell, P.A.: Anthelmintic activity of closantel against bencimidazole resistant strains of Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis in sheep. Australian Vet. J. **56**: 461-462 (1980).

41. Hall, C.A., Kelly, J.D., Whitlock, H.V., Martin, I.C.A., McDonnell, P.A., Gunawan, M.: Five generations of selection with benzimidazole and non benzimidazole anthelmintic against benzimidazole resistant strains of Haemonchus contortus and Ostertagia spp. in sheep. Res. Vet. Sc. 30: 138-142 (1981).
42. Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A., Whitlock, H.V., Mc Donell, P.A. and Gunawan, M.: Changes in response of a benzimidazole resistant strain of Haemonchus contortus from sheep after passing through calves. Res. Vet. Sci. 30: 143-146 (1981).
43. Hembry, F.G., Miller, J.E., Sims, D., Rodriguez, S. and Stagg, L.C.: Efficacy of repeated doses of Levamisol, Morantel fenbendazole and Ivermectin against gastrointestinal nematodes in ewes. Am. J. Vet. Res. 47 (8): 1677-1679 (1986).
44. Herd, R.P., Shawars, W.R. and Heider, L.E.: Netobimin (Totabin Sch) Efficacy in ruminants in Ohio, U.S.A. 11th conference, World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Abstracts. Brazil: 30 (1985).
45. Hoft, D.R., Fischer, M.H., Bochis, R.J. and al.: A new broad-spectrum anthelmintic: 2-(4-thiazolyl)-s-Isopropoxycabolamino-benzimidazole. Experientia 26: 550-551 (1970).
46. Hogarth-Scott, R.S., Kelly, J.D., Whitlock, H.V., Ng B. K., Thompson, H.G., James, R.E. and Mears, F.A.: The anthelmintic efficacy of fenbendazol against thiabendazole-resistant strains of Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis in sheep. Res. Vet. Sci. 21: 232-237 (1976).
47. Hunt, K.R., Taylor, M.A.: Use of the egg hatch assay on sheep faecal samples for the detection of benzimidazole resistant nematodes. The Veterinary Record. 125: 153-154 (1989).

48. Infante, G.S., Calderon, A.L.: Manual de Análisis Probit. Centro de estadística y Cálculo, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México, 1982.
49. Kates, K.C., Colglazier, M.L., Enzie, F.D., Lindahl, I.L. And Samuelson, G.: Comparative activity of thiabendazole, levamisole and parbendazole against natural infection of helminths in sheep. J. Parasitol. **57** (2): 356-362 (1971).
50. Kelly, J.D. : Animal netatodes: growing resistance to anthelmintics. Aust. Vet. J. **24** (3) : 123-126 (1981).
51. Kelly, J.D. and Hall, C.A.: Resistance of animal helminths to anthelmintics. Advances in pharmacology and chemotherapy **16**: 89-128 (1979).
52. Kennet, S.T. and Manford, E.M.: Evaluation of albendazole in cattle naturally infectid with nematodes. Am. J. Vet. Res. **43** (3): 551-552 (1982).
53. Kettle, P.R., Vlassoff, A. Ayling, J.M., Mc Mutry, L.M., Smith, S.J. and Watson, A.J. : A survey of nematode control measures used by sheep and anthelmintic resistance on their farms; part 2: Soyth Island excluding the Nelson region. N.S. Vet. J. **30**: 79-81 (1982).
54. Kistner, T.P. and Wyse, D.: Efficacy of oxfendazole against an ovine isolate of benzimidazole resistant Haemonchus contortus. Australian Vet. J. **54**: 469-470 (1978).
55. Lapage, G.: Parasitología Veterinaria 2°ed. Compañía Editorial Continental, S.A. Cuarta reimpresión: 121-126 (1976).
56. Larios G., F., Lora M., Pedro P., Trigo T., Francisco, Rodriguez del Rosal, E. : Fisiología del ovino tabasco o pellibuey en clima subtropical A (f)c; I. Hematología y niveles séricos de calcio.

fósforo y magnesio. Técnica Pecuaria en México 30: 84-90 (1976).

57. Le Jambre, L.F.: Egg hatch as an in vitro assay of thiabendazole resistance in nematodes. Vet. Parasitology, 2: 385-391 (1976).

58. Le Jambre, L.F., Southcott, W.H. and Dash, K.M.: Resistance of selected lines of Haemonchus contortus to thiabendazole, morantel tartrate and levamisol. Int. J. Parasitol. 6: 217-222 (1976).

59. Liebano, E.: Clave de identificación de larvas de nematodos gastroentéricos de bovinos y ovinos. Diagnóstico de la parasitosis interna de los rumiantes domésticos y cerdos. Memorias. Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria: 264-270 (1985).

60. Little, T.M. y Hills, F.J.: Métodos estadísticos para la investigación en agricultura. Trillas. México. (1979).

61. Mc Farland, J.W.: Chemo therapy of intestinal nematodes. Progress in drug Research. Ed. Jucker, E. (1976).

62. Mc Kenna, P.B.: The efficacy of levamisole and ivermectin against a morantel-resistance strain of Trichostrongylus colubriformis. N. Z. Vet. J. 33: 198-199 (1985).

63. Marriner, E.S., Bogan, A.J.: Pharmacokinetics of albendazole in sheep. Am. J. Vet. Res. 41 (7): 1126-1129 (1980).

64. Marriner, E.S and Bogan, A.J.: Pharmacokinetics of Oxfendazole in sheep. Am. J. Vet. Res. 42 (7): 1143-1145 (1981)

65. Marriner, E.S and Bogan, A.J.: Pharmacokinetics of Fenbendazole in sheep. Am. J. Vet. Res. 42 (7): 1146-1148 (1981).

66. Martin, P.J., Le Jambre, L.F. and Claxton, J.H.: The impact of refugia on the development of thiabendazole resistance in

Haemonchus contortus. Intern. J. for Parasitology. 11: 35-41 (1981).

67. Martinez, F.J.I. y Jaramillo, M.M.G.: Estudio bibliográfico de la efectividad antihelmíntica de los bencimidazoles más frecuentes empleados contra los parásitos gastrointestinales in rumiantes. Tesis de licenciatura. Fac. de Estudios Superiores Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma de México. México (1987).

68. Meyer Jones, L., Booth, N.H. McDonald, L.E.: Veterinary pharmacology and therapeutics. Fourth edition. The Iowa State Univ. Press, USA, Cha. 52: 1024-1032 (1977).

69. Miller, J.E. and Baker, F.: Thiabendazole-resistant strains of Haemonchus contortus and Ostertagia in California lambs. Am. J. of Vet. Research. 41 (10): 1674-1676 (1980).

70. Ogonsusi, R.A.: Changes in blood values of sheep suffering form acute and chronic helminthiasis. Res. Vet. Sci. 3: 296-301 (1978).

71. Pfizer, J. : Manuel de parasitologie. Nématodes gastro-intestinaux des porcins, bovins, ovins, caprins. PFIZER (1976).

72. Pomroy, W.E., Charleston, W.A.G. and West, D.M.: A strain of Haemonchus contortus resistant to thiophanate. N. Z. Vet. J. 33: 59-60 (1985).

73. Powers, K.G., Wood, L.B., Eckert, J., Gibson, T., Smith, H.J.: World association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine) Vet. Parasitol. 10: 265-284 (1982).

74. Presidente, P.J.A.: Methods for detections of resistance to anthelmintic resistance in nematodes to anthelmintic drugs. Ed. CSIRO, Division of animals health, Australian Wool Corporation. (1985).

75. Prichard, R.K., Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A. and Donald, A.D.: The problem of anthelmintic resistance in nematodes. Aust. Vet. J. **56**: 239-243 (1980).
76. Quiroz, R.H.: Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. Limus: 444 (1984).
77. Quiroz, R.H. George, S.M.S., Olvera, V.J.: Eficacia comparativa del netobimin, febendazol y albendazol contra nematodos gastroentéricos en ovinos del Ajusco, D.F. Memorias de la reunión de Investigación Pecuaria en México 1988. :38 (1988).
78. Romanowski, Marcia L. Rhoads, M.L. Colglazier and Kates, K.C.: Effect of cambendazole, thiabendazole and levamisole on fumarate reductase in Cambendazole-resistant and sensitive strains of Haemonchus contortus. The Journal of parasitology. **61**: 777-778 (1975).
79. Salman, S.K. and Duncan, J.L.: The abomasal histology of worm free sheep given change infections of Haemonchus contortus. Vet. Parasitol. **16**: 43-54 (1984).
80. Santiago, M.A., Da Costa, V.C., and Benevenga, S.F.: Netobimin (Totabin Sch) Efficacy in ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. 11th conference. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology Abstracts.: 30 (1985).
81. Schalm, O.W. y Archer, R.K.: Hematología veterinaria. Técnicas de hematología animal. Ed. Acribia, España 1967.
82. Shanta, C.J., Wan, S.P. and Cheah, T.S.: Anthelmintic trials against gastrointestinal helminths of goats. I. The efficacy of albendazole. Mal. Vet. J. Vol. 7: 1-10 (1980).

83. Smith-Buijs, C.M.C and Borgsteede, F.H.M.: Effect of cool storage of faecal samples containing *Haemonchus contortus* eggs on the results of an *In vitro* egg development assay to test anthelmintic resistance. Research in Veterinary Science. **40**: 4-7 (1986).
84. Soulsby, E.J.L.: Textbook of Veterinary Clinical Parasitology. Vol. I. Backwell Scientific publications. (1965).
85. Spinell, J.S., Reed, E.L.: Drugs in veterinary practice. Ch. 12. The C.V. Mosby Company, Saint Louis. 1972-1979 (1978).
86. Steel, J.W., Hennessy, D.R., Lacey, E. : Netobimin (totabin Sch) Metabolism and pharmacokinetics in sheep. 11th conference. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology: 38 (1985).
87. Steel, J.W., Hennessy, D.R., Waller, P.J., Dobson, R.J., Prichard, R.K., y Donald, A.D.: Netobimin (Totabin-Sch). Efficacy in sheep in Australia. 11th Ass. for the Advancement of Veterinary Parasitology. 31 (1985)
88. Theodorides, V.J., Nawalinski, T., Murphy, B.S., Freeman, M.T.: Efficacy of albendazole against gastrointestinal nematodes of cattle. Am. J. Vet. Res. **37** (13): 1517-1518 (1976).
89. Theodorides, V.J., Scott, G.C. and Ledesman, M.: Strain of *Haemonchus contortus* resistant against bencimidazole anthelmintic. Am. J. Vet. Res. **31**: 859-863 (1970).
90. Thienpont, D. Van Paris, F.J., Raeymaekers, A.H.M., Vandenberg, J. Demoen, P.J.A., Allewijn F.T.N. and Janssen, P.A.J.: Tetramisole (R-8299), a new potente broad spectrum anthelmintic. Nature: **209** (1966).

91. Van Wyk, J.A., Gerber, H.M.: A field strain of Haemonchus contortus showing slight resistance to rafoxanide. Onderstepoort J. Vet. Res. **47**: 137-142 (1980).
92. Van Wyk, J.A., Macan, F.S., Gerber, H.M. and Alves, R. M.R.: Two field strains of Haemonchus contortus resistant to rafoxanide. Onderstepoort J. Vet. Res. **54**: 143-146 (1980).
93. Vray, B., De Vos, L., Josens, G. Pêcheur, M. et Losson, B.: Etude en microscopie électronique à balayage du ver mirilton Haemonchus contortus (Rudolphi, 1803). Ann. Med. Vet.: 13-24 (1988).
94. Waller, P.J.: Anthelmintic resistance in Australia. Parasitol. Today Australian supplement: 516-518 (1986).
95. Webb, R.F. : Epidemiological Factors Contributing to a high incidence of anthelmintic resistance in field populations of Haemonchus contortus. Working paper. (s.f.).
96. Webb, R.F., McCully, C.H. and Adams, B.S.: The efficiency of oxfendazole against four field populations of benzimidazole resistant Haemonchus contortus . Australian Vet.J. **55**: 249 (1979).
97. Whitlock, H.V., Kelly, J.D., Porter, C.J., Griffin, D.L. and Martin, I.C.A.: *In vitro* field screening for anthelmintic resistance in strongyles of sheep and horses. Vet. Parasitol. **7**: 215-232 (1980).
98. Williams, J.C, Knox, J.W., Marbury, K.S., Kimbal, M.D., Willis, E.R., Snider, T.G. and Miller, J.E.: Netobimin (Totabin Sch) Efficacy in cattle in Louisiana, U.S.A. 11th conference. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology. : 331 (1985).
99. Williams, J.C., Sheehan, B.S., Fuseller, R.H.: Effect of albendazole on gastrointestinal parasites of cattle. Am. J. Vet. Res.

38 (12): 2037-2038 (1977).

100. Zcaken, S.J., Mozier, J.D., White, R.G., Hanse, M.F.: Efficacy of Coumaphos crumbles and naftalophos boluses against nematodes of cattle. Am. J. Vet. Res. 37 (6): 709-710 (1976).

101. Zeakes, S.J., Mozier, J.D., White, R.G. y Hansen, M.F.: Efficacy of coumaphos boluses against nematodes of cattle. Am. J. Vet. Res. 37 (6): 709-710 (1976).