



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DIAGNÓSTICO DE UNIDADES DE PRODUCCIÓN BOVINA CON
NEMATODOS GASTROINTESTINALES RESISTENTES A LOS
ANTIHELMÍNTICOS Y LOS FACTORES RELACIONADOS A LA
RESISTENCIA EN EL TRÓPICO DEL ESTADO DE VERACRUZ,
MÉXICO.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
JOSÉ RODRIGO BECERRA NAVA**

**ASESORES:
DR. MVZ MIGUEL ÁNGEL ALONSO DÍAZ
DR. MVZ HECTOR QUIROZ ROMERO**

MÉXICO, DF

2012

DEDICATORIA

A mi madre Guadalupe Nava Pastrana, por su apoyo a todo momento, sus consejos, sus valores, la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por todo su amor.

A mi padre José E. Becerra Gómez, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante.

A mis hermanitas Jimena y Valeria, por ser parte fundamental de mi vida, por su cariño, su apoyo y para que vean en mí un ejemplo a seguir.

A mi abuelita Ana María Gómez González, por todo el cariño, amor y enseñarme que la vida se disfruta a cada momento, a cada instante.

A mis Abuelitos Nicolás, Beatriz, Pepe, que aunque ya no están presentes, siempre estarán en mi corazón.

A mi familia que siempre ha estado en todo momento apoyándome.

A Samuel Sandoval y Mario Salamanca, por enseñarme a disfrutar de la Medicina Veterinaria y que nunca sabes demasiado, siempre hay que estudiar.

A George, Mike, Joe, Yutzil, Omar, Israel, Mayito, Víctor Gómez, Donovan, Cesar, Gabriel, Siller, Nikko, Mowgli. Gracias por permitirme formar parte de su familia considerándome un hermano.

A las personas que me brindaron su amistad y un poco de su locura, que hicieron mas llevadero todo este esfuerzo: Luis, Hans, Elke, Pato (Abraham), Cristian, Foco, Chyntia, Barut, Javis, Miguel, Betsy, Elías, Lulú, Kari, Lalo, Hochi, Maye, Sandra.

A las personas que durante todos estos años me demostrado su amistad y que

siempre estuvieron ahí para compartir su alegría y un sin número de experiencias que nos unieron como una gran fraternidad: Diana, Ivette, Katia, Mariño, Ingrid, Joyce, Ester, Lore, Viri, Monty, Pepo, Mosco, Emanuel, Mariela, Atenas, Moreno.

A mi Universidad y mi Facultad, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas y formar parte de un gremio orgullosamente “HECHO EN CU”, a todos y cada uno de mis profesores por todo el conocimiento tanto académico, como de vida.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Miguel Ángel Alonzo Díaz por brindarme la oportunidad de colaborar con él y ser un excelente maestro, asesor y amigo, también por su comprensión y paciencia.

Al Dr. Héctor Quiroz Romero por su orientación y asesoría para realizar este trabajo.

Al CONACYT por el financiar el proyecto N° 118371 “Prevalencia de unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos así como factores de riesgo asociados a la resistencia, en el trópico veracruzano”. Apoyo complementario a investigadores en proceso de consolidación (SNI 1) 2009.

Al MPA Héctor Basurto Camberos por confianza, apoyo y amistad dentro de mi estancia en el CEIEGT.

Al MC. Agustín Fernández Salas por el apoyo, amistad y tiempo para realizar este trabajo.

A los compañeros y amigos residentes del CEIEGT que colaboraron en los muestreos de campo.

A los señores productores que me brindaron el apoyo y me dieron la oportunidad de realizar este trabajo.

A el técnico laboratorista Jorge Becerra López (Popochas) por el apoyo en laboratorio y gracias por ser un gran maestro y un gran amigo.

CONTENIDO		Pág.
I.	RESUMEN.	1
II.	INTRODUCCIÓN.	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.	4
	3.1. Aspectos generales de los nematodos.	4
	3.2. Ciclos biológicos de nematodos gastrointestinales.	4
	3.3. Lesiones y signos clínicos causados por los nematodos gastrointestinales.	7
	3.4. Diagnóstico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes.	7
	3.4.1. Técnicas de laboratorio para el diagnóstico de NGI.	8
	3.5. Control químico de los nematodos gastrointestinales en bovinos.	8
	3.5.1. Imidazotiasoles (IMZ).	9
	3.5.2. Lactonas macrocíclicas (LM).	10
	3.5.3. Bencimidazoles (BZ).	10
	3.6. Resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos.	11
	3.7. Impacto económico de la resistencia antihelmíntica en las unidades de producción bovina.	12
	3.8. Diagnóstico de la resistencia antihelmíntica.	13
	3.8.1. Diagnóstico de resistencia antihelmíntica mediante la prueba de educación de huevos en heces (FERCT).	13
	3.8.2. Técnicas <i>in vitro</i> para el diagnóstico de resistencia.	14
IV.	JUSTIFICACIÓN	16
V.	HIPÓTESIS	17
VI.	OBJETIVOS	18
VII.	MATERIAL Y MÉTODOS	19
	7.1. Localización geográfica	19
	7.2. Animales experimentales y entrevistas	20
	7.3. Diseño experimental	20

7.4.	Toma de muestras y análisis de laboratorio	21
7.5.	Análisis estadístico	21
VIII.	RESULTADOS	23
8.1.	Prevalencia de unidades de producción bovina (UBP) con nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos.	23
8.2.	Manejo de los antihelmínticos en las unidades de producción bovina y los factores de riesgo relacionados a la resistencia	24
8.3	Géneros de nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos en unidades de producción bovina	26
IX.	DISCUSIÓN	28
X.	CONCLUSIONES	33
XI.	REFERENCIAS	34
XII	ANEXOS	30

TABLA DE CUADROS		Pág.
Cuadro 1.	Localización de nematodos en el tracto gastrointestinal de rumiantes domésticos.	6
Cuadro 2.	Reportes de resistencia de nematodos gastrointestinales de bovinos a los antihelmínticos en México.	12
Cuadro 3.	Porcentaje de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales y diagnóstico de resistencia a los imidazotiasoles en unidades de producción bovina de Veracruz, México.	23
Cuadro 4	Porcentaje de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales y diagnóstico de resistencia a los lactonas macrocíclicas en unidades de producción bovina de Veracruz, México.	24

TABLA DE FIGURAS		Pág.
Figura 1.	Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales.	6
Figura 2.	Mapa de los municipios donde se realizaron los muestreos para el diagnóstico de resistencia de los nematodos gastrointestinales a los AH.	19
Figura 3.	Distribución del fin zootécnico en las unidades de producción bovina evaluadas en una región del trópico húmedo de Veracruz, México.	25
Figura 4.	Porcentaje de antihelmínticos utilizados en las diferentes unidades de producción bovina evaluadas en este estudio.	25
Figura 5.	Prevalencia de nematodos gastrointestinales en las unidades de producción tratadas con AH.	26
Figura 6.	Prevalencia de nematodos gastrointestinales en las unidades de producción tratadas con imidazotiasoles.	27
Figura 7.	Prevalencia de nematodos gastrointestinales en las unidades de producción tratadas con lactonas macrocíclicas.	27

I. RESUMEN.

JOSÉ RODRIGO BECERRA NAVA. Diagnóstico de unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos y los factores relacionados a la resistencia en el trópico del estado de Veracruz, México. (bajo la dirección del Dr. MVZ Miguel Ángel Alonso Díaz y del Dr. MVZ Héctor Quiroz Romero). Uno de los problemas que enfrenta la ganadería son las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales (NGI). El control de estos parásitos se basa en el uso de diversas familias de antihelmínticos (AH) y en la actualidad la eficiencia de este método de control está comprometido por la posible presencia de poblaciones de NGI resistentes. Los objetivos de este estudio fueron 1) evaluar el grado de NGI resistentes a las Lactonas Macroclínicas (LM), Bencimidazoles (BZ) e Imidazotiasoles (IMZ) en las unidades de producción bovina (UPB), 2) identificar posibles factores que se relacionen a la resistencia de los NGI, 3) clasificar los géneros de NGI resistentes a los AH. Se evaluaron 15 UPB en la zona centro del estado de Veracruz, México. El diagnóstico de resistencia de NGI se realizó mediante el protocolo de la prueba reducción de huevos en heces (FERCT). La cuantificación de huevos por gramo de heces se realizó mediante la técnica de McMaster modificada. Los animales se distribuyeron de acuerdo con las cargas parasitarias en los siguientes grupos: 1) grupo testigo, 2) grupo tratado con ivermectina (LM)(0.2 mg por kg de peso vivo), 3) grupo tratado con fenbendazol (BZ)(5.0 mg por kg de peso vivo) y 4) grupo tratado con levamisol (IMZ)(7.5 mg por kg de peso vivo). A los catorce días post-tratamiento se tomaron otras muestras de heces para determinar la carga de NGI y realizar un coprocultivo antes y después del tratamiento para identificar los géneros de NGI resistentes a los AH. En cada unidad de producción, se realizó una entrevista estructurada para obtener información sobre el uso de los AH para identificar algunos posibles factores asociados a la resistencia (R). Para calcular el porcentaje de reducción de huevos por gramo de heces (HGH) y el intervalo de confianza al 95% se utilizó el programa estadístico RESO.EXE[®]. La prevalencia de

UPB con poblaciones de NGI resistentes a IMZ fue del 72.72% (8/11 ranchos). La prevalencia de UPB con poblaciones de NGI resistentes a LM fue del 100% (5/5 ranchos). La prevalencia de ranchos con poblaciones de NGI con doble R fue 15.38% (2/13). De los 13 ranchos evaluados, solo tres (23.07.%) tuvieron NGI susceptibles a los AH evaluados. El 84.6% de los productores no pesa a lo animales antes de la administración de AH. No se identificaron factores de riesgo asociados a la resistencia de los NGI a las LM ni a lo IMZ ($P < 0.05$). Se concluye que las UPB de la zona centro del estado de Veracruz tiene una prevalencia elevada de poblaciones de NGI resistentes a los IMZ a las LM y el principal género de NGI identificado en todos los casos de resistencia AH fue *Cooperia spp.*

II. INTRODUCCIÓN

La producción bovina en algunas regiones del trópico mexicano, representa una de las principales fuentes de proteína de origen animal para el consumo humano.⁽¹⁾ Uno de los problemas más comunes que enfrentan las unidades de producción bovina (UPB) en el trópico son las parasitosis causada por nematodos gastrointestinales (NGI).⁽²⁾ Las nematodosis afectan con mayor frecuencia a los animales jóvenes e inmunodeprimidos, causando daños en la mucosa gastroentérica, provocando una disminución en la tasa de absorción de nutrientes y en la ganancia diaria de peso.⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Por su importancia económica y de salud, los NGI se intentan mantener bajo control mediante el uso de antihelmínticos (AH) de las familias de los imidazotiasoles (IMZ), lactonas macrocíclicas (LM) y bencimidazoles (BZ).⁽⁴⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾ Sin embargo, el uso y el efecto tóxico de estos AH depende de la susceptibilidad del parásito así como de factores medio ambientales y protocolos de medicina preventiva dirigidos a controlar las parasitosis.⁽³⁾ Otro factor adicional que puede afectar la eficacia de los AH es el desarrollo de resistencia de los parásitos a los AH.⁽⁸⁾

La resistencia es la presencia, dentro de una población, de individuos de NGI capaces de tolerar y sobrevivir a la administración de dosis terapéuticas de AH.⁽³⁾⁽⁹⁾

La resistencia antihelmíntica (RA) es hereditaria, lo que significa que una vez que existen NGI resistentes en una producción, éstos estarán presentes indefinidamente.⁽³⁾⁽⁹⁾ El uso rutinario (en la mayoría de los casos indiscriminado) de estos AH ha favorecido que se desarrolle esta RA en las poblaciones de NGI.⁽¹⁰⁾

El fenómeno de RA se ha presentado principalmente en pequeños rumiantes; pero en los últimos años el número de reportes de NGI de bovinos resistentes a los AH se ha incrementado.⁽⁴⁾ En México, existen pocos reportes de campo sobre la presencia de poblaciones de NGI resistentes a los AH; esta información puede ayudar a mejorar los programas de control de los NGI en bovinos y los índices productivos en las UPB.

III. REVISIÓN DE LITERATURA.

3.1. Aspectos generales de los nematodos.

El phylum nematoda incluye el mayor grupo de parásitos de los animales domésticos. Los nematodos son gusanos redondos que se encuentran distribuidos en una variedad de hábitats. Algunos son de vida libre, otros son parásitos de plantas y de animales vertebrados o invertebrados.⁽¹¹⁾ Las principales características morfológicas de los nematodos son las siguientes:

- El cuerpo es alargado, cilíndrico y más estrecho en los extremos (la sección transversal es redonda, por lo que se les denomina vermes redondos). Su tamaño oscila entre 1mm y 30mm.
- La superficie corporal es una fina cutícula transparente.
- Tienen una cavidad corporal llena de líquido que confiere turgencia al verme.
- Poseen un tracto digestivo tubular, que consta del orificio y cavidad bucal, esófago (faringe), intestino (compuesto de una sola capa de células) y ano (en hembras) o cloaca, común al aparato genital del macho.
- Se alimentan de residuos del intestino, moco, bacterias, células de la mucosa intestinal, etc. Algunas especies como *Haemonchus contortus* son hematófagas; metabolizan la energía por fermentación de la glucosa y los aminoácidos.⁽¹²⁾

3.2. Ciclo biológico de nematodos gastrointestinales.

El ciclo biológico de los NGI es directo y se divide en dos fases: 1) fase exógena o de vida libre y 2) fase endógena o fase parasitaria.

La fase exógena inicia con la eliminación de huevos de los NGI (a través de las heces del hospedero) al ambiente donde eclosionan a larva 1 (L1) entre 24 y 30 horas. Posteriormente la L1 evoluciona a larva 2 (L2) en aproximadamente 2 y 3 días, para finalmente mudar o transformarse en larva 3 (L3) o estadio infectante

entre 4 y 7 días. La larva infectante es activa y sube a las hojas del forraje para ser consumida por los rumiantes y de esta forma infectarlos. Los periodos de tiempo para la eclosión de huevos y el desarrollo larvario de los NGI, pueden variar dependiendo de las condiciones ambientales como la temperatura, la precipitación pluvial y la humedad, estas características pueden llegar a prolongar el desarrollo larvario u ocasionar la muerte larvaria.⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾

La fase endógena, inicia con el consumo de L3 por el hospedero y la ubicación final en el tracto gastrointestinal depende de quimiorreceptores que detectan glicoproteínas y glicolípidos producidos por el glicocalix de los bordes de las células epiteliales. En este sitio la L3 (desenvainada) penetra la membrana mucosa o entra en las glándulas gástricas y en un periodo de 1 a 4 días muda a larva 4 (L4) la cual permanece así durante un periodo de 10 a 14 días. Posteriormente, emergen y se transforma en la etapa de adulto joven (L5) seguido de la fase adulta.⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾

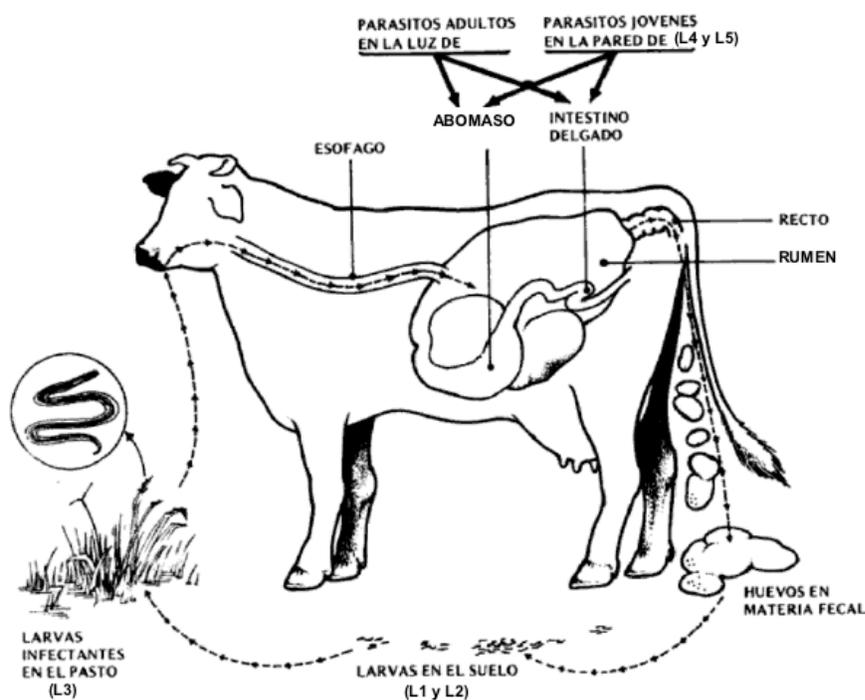


Figura 1. Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales como *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus* y *Cooperia*. Tomado de Mateus, 1983

Dentro del ciclo evolutivo de los NGI existe un proceso que altera el ciclo normal de los vermes que se denomina “hipobiosis”. Este fenómeno de vida latente o desarrollo inhibido se define como la inhibición temporal y prolongada o la interrupción del desarrollo larvario del nematodo en el hospedador. Las larvas inhibidas no se desplazan ni se alimentan; su metabolismo celular está reducido.⁽¹¹⁾⁽¹³⁾ El mecanismo regulador de la hipobiosis se desconoce en su totalidad y los factores que influyen en su desencadenamiento son:

1. Factores ambientales adversos como el clima frío y la ausencia de humedad.
2. Factores endógenos tales como la inmunidad, la edad, la ingestión de grandes cantidades de L3, o una población considerable de vermes adultos preexistentes.⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

La reanudación del desarrollo larvario se produce espontáneamente y de manera sincronizada cuando las condiciones medio ambientales son favorables para su sobrevivencia y también por factores inherentes al hospedero (ej. inmunodepresión, cambios hormonales).⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾ La mayoría de los NGI tiene su localización final en el sistema digestivo y normalmente la localización de los géneros es la siguiente (Cuadro 1):

Cuadro 1. Localización de nematodos en el tracto gastrointestinal de rumiantes domésticos

Localización	Hospederos	Género	Efectos
Esófago	Bovinos, ovinos, caprinos	<i>Gongylonema spp</i>	Daño en mucosa
Abomaso	Bovinos, ovinos y caprinos	<i>Haemonchus spp</i> <i>Mecistocirrus spp</i> <i>Ostertagia spp</i> <i>Trichostongylusaxeii</i>	Hematófago Hematófago Daño en mucosa Daño en mucosa
Intestino delgado	Bovinos, ovinos y caprinos	<i>Trichostongylus spp</i> <i>Bunostomum spp</i> <i>Cooperia spp</i> <i>Nematodirus spp</i> <i>Strongyloides spp</i> <i>Toxocara spp</i>	Daño en mucosa Hematófago Daño en mucosa Daño en mucosa Daño en mucosa Daño en mucosa, hematófago, obstrucción de la luz del órgano
Intestino grueso	Bovinos, ovinos y caprinos	<i>Trichuris spp</i> <i>Oesophagostomum spp</i> <i>Chabertia spp</i>	Hematófago, daño en mucosa Nódulos, daño en mucosa, hematófago Daño mínimo a mucosa

Tomado de Torre-Acosta y Aguilar Caballero, 2002; Quiroz Romero 1984

3.3. Lesiones y signos clínicos causados por los nematodos gastrointestinales.

El daño que ejercen los NGI en los hospederos varía en relación a distintos factores como el estado evolutivo (larva o adulto), el tipo de alimentación dentro del hospedero (si se alimentan de sangre, mucosa, contenido gástrico o intestinal).⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾

Dependiendo del género, las larvas pueden desarrollar parte de su ciclo biológico en la mucosa, en la lámina propia, la muscular de la mucosa y/o las glándulas gastrointestinales. Las lesiones ocasionadas por los nematodos en el tracto gastrointestinal incluyen gastritis hemorrágica, nodular, ulcerativa, aumento del epitelio, hiperemia e infiltración linfocitaria.⁽¹¹⁾⁽¹²⁾

La manifestación clínica depende de factores como la edad, la condición corporal del hospedero y de las especies de NGI involucradas en las parasitosis. Se pueden observar signos de anemia, hipoproteïnemia, edema submandibular, edema generalizado, mucosas pálidas, letargo, pérdida de peso, retraso en el crecimiento, diarrea y en ocasiones, la muerte del animal.⁽¹⁴⁾

En condiciones naturales las parasitosis causadas por NGI son de naturaleza mixta (varios géneros y especies). De tal forma que para las zonas tropicales, *Haemonchus spp.* y *Mecistocirrus spp.* afectan el abomaso y *Trichostrongylus spp.* el intestino delgado. Además, la presencia de *Cooperia spp.*, *Ostertagia spp.* y *Nematodirus spp.*, en menor grado, pueden complementar junto con otras parasitosis gastrointestinales el síndrome de mala digestión y desnutrición, algunas veces con diarrea, otras con anemia y melena.⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾

3.4. Diagnóstico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes.

El diagnóstico de los NGI se puede realizar mediante el examen clínico en donde la existencia de un síndrome anémico, depresión, emaciación, retardo en el crecimiento y el síndrome gastroentérico caracterizado por heces diarréicas,

permiten sospechar del problema parasitario. No obstante, es necesario discriminar con algunos factores de confusión como la desnutrición y la presencia de otras enfermedades que pueden provocar signos similares.

Es importante relacionar otros aspectos, como son las condiciones epidemiológicas, presentación estacional, edad, tipo de producción, presentación individual o grupal.⁽¹¹⁾

3.4.1. Técnicas de laboratorio para el diagnóstico de NGI.

El diagnóstico de las parasitosis en rumiantes es una herramienta indispensable de trabajo para el médico veterinario, quien necesita conocer en forma precisa la situación parasitológica de los animales para establecer el tratamiento adecuado. El diagnóstico para este grupo de parásitos se basa en el uso de técnicas coproparasitoscópicas cualitativas (por ejemplo: flotación), la cual permite identificar la presencia de huevos de NGI. Además se cuenta con los métodos coproparasitoscópicos cuantitativos como McMaster, que es la más empleada por ser rápida y sencilla. Existen otras como la de Baermann y coprocultivos que permiten obtener estadios larvales de estos parásitos para poder identificaren forma específica el género de algunos nematodos.⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾ Tanto las técnicas cualitativas como las cuantitativas son complementarias y conducen a un diagnóstico confiable de NGI en rumiantes.

3.5. Control químico de los nematodos gastrointestinales en bovinos.

Las infecciones por NGI causan pérdidas en la productividad en la ganadería de todo el mundo, por ello el tratamiento antihelmíntico es necesario.⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ Los antihelmínticos constituyen en la actualidad el principal método de control de los nematodos de rumiantes. La mayoría de estos compuestos son altamente efectivos y selectivos en el control de endoparásitos; no obstante, deben ser

usados y elegidos adecuadamente, con base en criterios técnicos, con el fin de obtener respuestas clínicas favorables. A pesar de, se ha observado que en el campo los AH son utilizados indiscriminadamente sin considerar aspectos como el grado o nivel de infección parasitaria y las buenas prácticas del uso de los mismos.⁽¹⁸⁾⁽¹³⁾

Existen varias familias de antihelmínticos disponibles para el control de los NGI entre los que se encuentran las lactonas macrocíclicas (LM), los bencimidazoles (BZ) y los imidazotiasoles (IMZ). Estos medicamentos se caracterizan por su amplio margen de seguridad, su amplio espectro y su actividad tanto contra estadios maduros e inmaduros de los nematodos (en algunos casos).⁽¹³⁾

Además de emplear un buen AH, es necesario disponer de información epidemiológica de las nematodosis gastrointestinales de la región como la dinámica poblacional a través del año así como los niveles de contaminación en las praderas que permitan diseñar calendarios de desparasitación mediante el uso de AH eficaces.

3.5.1. Imidazotiasoles (IMZ).

Los IMZ son efectivos contra los estados maduros de los NGI en rumiantes y las formas larvarias y maduras de los parásitos pulmonares, pero es poco eficaz contra larvas hipobióticas y carece además de acción ovicida. Debido a su amplia disponibilidad comercial y por tener un mayor margen de seguridad el levamisol es la estructura química más utilizada dentro de esta familia. Se absorben a través de la cutícula y actúan rápido y selectivamente como agonista colinérgico sobre los receptores nicotínicos sinápticos y extra-sinápticos de las membranas de las células musculares de los nematodos.⁽¹³⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾ Cuando los IMZ se unen a los receptores nicotínicos ocasionan la apertura de los canales iónicos, aumenta la conductancia al sodio y se despolarizan las membranas de las células musculares, resultando en contracción muscular y parálisis espástica.⁽²¹⁾ Generalmente, después de la acción de los IMZ los parásitos son expulsados vivos.⁽¹³⁾⁽²⁰⁾ En dosis

altas los IMZ interfieren con el metabolismo de los carbohidratos de los nematodos por medio del bloqueo de la reducción del fumarato y la oxidación del succinato.⁽²²⁾ La resistencia a estos agonistas colinérgicos se produce por cambios en las propiedades de la población de receptores nicotínicos⁽²³⁾ y a través de una alteración en la unión de estos fármacos con sus receptores nicotínicos en las células musculares del nematodo⁽¹⁹⁾

3.5.2. Lactonas macrocíclicas (LM).

Las LM son fármacos de amplio espectro y elevada potencia que se usan para el control de parásitos internos y externos (nematodos y artrópodos), razón por la cual se denominan endectocidas.⁽¹³⁾ En un principio se creía que las LM aumentaban la liberación del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en los sinaptosomas del sistema nervioso. Esto a su vez abre canales de cloro modulados por el GABA.⁽²²⁾

Actualmente se sabe que las LM se unen selectivamente y con gran afinidad a los canales de cloro modulados por glutamato en las células nerviosas y musculares de los nematodos. En estos canales, las sinapsis entre interneuronas inhibitorias y las neuronas motoras excitatorias es el principal sitio de acción; el ion cloro influye en la disminución de la resistencia de la membrana y ocasiona una ligera hiperpolarización del potencial de reposo de las células post-sinápticas impidiendo la transmisión de los estímulos nerviosos a los músculos, dando así una parálisis flácida seguida de su muerte y/o expulsión.⁽¹³⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²²⁾

3.5.3. Bencimidazoles (BZ).

Los BZ actúan ligándose selectivamente a la subunidad β de la proteína tubulina de los nematodos; de esta forma, modifican el patrón de polimerización para la formación de los microtúbulos que origina una pérdida de la homeostasis celular, que si persiste en el tiempo puede resultar letal para el parásito.⁽²⁴⁾ Los microtúbulos están formados por dos subunidades protéicas muy relacionadas, β tubulina y α tubulina.⁽²⁴⁾ El efecto farmacológico de los BZ requiere mayor período

de latencia, siendo más lento que aquellos que actúan sobre la coordinación neuromuscular del parásito e incluye déficit energético del parásito por efecto disruptivo de las células intestinales e inhibición de la producción de huevos⁽²¹⁾. Lo anterior ocasiona efectos letales sobre los parásitos al disminuir progresivamente las reservas energéticas e inhibirles la excreción de los productos de desecho y los factores protectores de las células.⁽¹³⁾⁽²⁰⁾⁽²²⁾

Los bencimidazoles también actúan en concentraciones altas interrumpiendo las vías metabólicas dentro de los helmintos e inhibiendo las enzimas malato deshidrogenasa y la fumarato reductasa.⁽²²⁾

3.6. Resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos.

La resistencia es la capacidad que tienen los parásitos para sobrevivir los efectos tóxicos de un compuesto químico que normalmente es letal para una población susceptible de la misma especie. Es decir, la población de parásitos reduce su sensibilidad a la acción de una o más sustancias químicas. Esta capacidad es heredable, y se refleja en un aumento de parásitos dentro de esa misma población que son capaces de evadir los efectos de los antihelmínticos.⁽¹³⁾

Los reportes de resistencia antihelmíntica en bovinos son menos conocidos que en los pequeños rumiantes; esto, ocasionó creer que el problema de resistencia no es importante en los sistemas de producción bovina en el mundo. Sin embargo, en la actualidad el número de reportes de unidades de producción bovina con NGI resistentes a los AH se ha incrementado.⁽¹⁾⁽¹³⁾⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾

Recientemente el tema de la resistencia a los antihelmínticos de NGI en bovinos se ha reportado que en Brasil⁽²⁷⁾, Argentina⁽⁵⁾⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾, Chile⁽³⁰⁾, Colombia⁽³¹⁾ y Australia⁽³²⁾⁽³³⁾ hay poblaciones de NGI resistentes a LM, BZ, IMZ.

En México existen solamente tres reportes publicados de resistencia de NGI a las LM y BZ en bovinos (Cuadro 2). No existen estudios sobre el diagnóstico de resistencia de las poblaciones de NGI a los IMZ en unidades de producción bovina.

Cuadro 2. Reportes de resistencia de nematodos gastrointestinales de bovinos a los antihelmínticos en México.

Autor	Resistencia	Referencia
Encalada <i>et al.</i> , 2008	R a LM	VetMex; 39(4): 423-428
Canul-Kuet <i>al.</i> , 2012	R a LM	VetParasitol; 183: 292-298
Arnaud y Alonso-Díaz, 2012	R a BZ	RevCient; 22(4): 315-320

De acuerdo con los autores previamente citados, la aparición del problema de resistencia pudo deberse a factores relacionados con algunas prácticas en el uso de los AH tales como la elevada frecuencia de tratamientos, a la no rotación de familias de AH y a las malas prácticas de manejo de los productos (subdosificación o sobredosificación). Identificar los posibles factores de riesgo y su asociación con la RA en los ranchos del trópico húmedo de México podría ayudar a mejorar el uso de los productos químicos, y en consecuencia prolongar la vida útil de los productos químicos eficaces.⁽¹⁾⁽¹⁶⁾⁽²⁶⁾

3.7. Impacto económico de la resistencia antihelmíntica en las unidades de producción bovina.

Las parasitosis por NGI *per se* causan importantes pérdidas económicas a la ganadería bovina en pastoreo, sobretodo en las zonas tropicales y subtropicales. Estas pérdidas pueden exacerbarse con la aparición de poblaciones de NGI resistentes o multi-resistentes debido a la falta de control de los mismos, a un mayor uso de los AH (dosis y frecuencia) y a la disminución de la vida útil de los productos químicos. La disponibilidad futura de nuevos antiparasitarios, se encuentra comprometida por el progresivo aumento de los casos de resistencia y los crecientes costos de investigación y desarrollo.⁽⁹⁾ De este modo, se ha indicado que dado el alto costo y bajo retorno de la investigación y desarrollo de parasiticidas, en el futuro se requerirá de nuevos enfoques en el proceso de descubrimiento de drogas, lo que implicará un mayor componente de investigación básica y tal vez, mayores costos⁽³⁴⁾.

3.8. Diagnóstico de la resistencia antihelmíntica.

Existen diferentes métodos para la detección de la resistencia AH de los NGI de importancia veterinaria. De acuerdo con la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (W.A.A.V.P., por sus siglas en inglés) la resistencia en rumiantes se puede determinar mediante las técnicas descritas en la guía de Coles *et al.*(2006). Esta guía describe la metodología para diagnosticar la resistencia para todas las familias de AH a nivel de campo mediante la técnica de reducción del conteo de huevos en heces (FERCT, por sus siglas en inglés) y que se describe a continuación.

3.8.1. Diagnóstico de resistencia antihelmíntica mediante la prueba de reducción de huevos en heces (FERCT).

Posiblemente esta prueba de diagnóstico de RA es la más utilizada a nivel mundial.

Consiste en evaluar la eficacia AH mediante la comparación de recuentos de huevos en materia fecal antes y después del tratamiento en animales que cumplan con los criterios de inclusión. De acuerdo a la W.A.A.V.P., existen criterios de inclusión de los animales para el desarrollo del diagnóstico: i) se sugiere utilizar animales jóvenes infectados naturalmente con NGI y que estén eliminando al menos 100 hpgh, ii) que los animales no hayan sido tratados con ningún AH al menos de 8 a 12 semanas antes de la prueba y iii) se requiere formar grupos entre 10 y 15 animales (control y tratados) para realizar el diagnóstico de resistencia. La aplicación del tratamiento se debe realizar de acuerdo con el peso exacto de los animales y el diagnóstico debe realizarse de 10 a 14 días post-tratamiento mediante la técnica de McMaster modificada y un coprocultivo para identificar los géneros de NGI que presentaron resistencia.

Una de las principales ventajas de esta metodología es que puede ser utilizada en rumiantes, equinos y cerdos, y puede ser aplicada con todas las familias de AH. Las principales desventajas pueden ser los costos debido a que es necesario

realizar al menos dos muestreos en cada unidad de producción, el tiempo y la mano de obra invertida en campo y en laboratorio así como la dificultad de encontrar el número de animales que cubran los criterios de inclusión descritos en las guías de la W.A.A.V.P.⁽¹³⁾⁽³⁵⁾

3.8.2. Técnicas *in vitro* para el diagnóstico de resistencia.

Existen diferentes técnicas *in vitro* para el diagnóstico de RA que pueden clasificarse en bioensayos y moleculares.⁽¹⁰⁾⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾

Bioensayos

- **Prueba de eclosión de huevos.** Esta prueba está basada en el aislamiento de los huevos de la materia fecal para su posterior incubación en una serie de diluciones de productos a base de BZ durante un tiempo determinado. La RA se evalúa de acuerdo con el porcentaje de desarrollo embrionario y eclosión.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾
- **Prueba de motilidad larval.** Esta prueba se desarrolla especialmente en larvas de *Ostertagia spp.* y *Haemonchus spp.* Se basa en evaluar la inhibición de la motilidad mediante el uso de fármacos como el Levamisol, el Pirantel y el Morantel que actúan produciendo parálisis en los NGI. Las larvas son expuestas durante 24 horas a diferentes concentraciones de un determinado AH y posteriormente se mide el porcentaje de inhibición de la motilidad larvaria.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾
- **Prueba de fijación a la tubulina.** Se basa en la capacidad de los bencimidazoles para fijarse a la tubulina de los NGI en sobrenadantes de suspensiones de L3. Para el desarrollo de la prueba se produce un extracto crudo de tubulina de NGI adultos, larvas infectantes o huevos para incubarlos con un BZ marcado con tritio. Los extractos de tubulina de NGI resistentes se unen menos a BZ que los susceptibles.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾
- **Prueba de desarrollo larval.** Esta prueba se basa en exponer los huevos de nematodos a diluciones seriadas de AH en medios específicos y dejarlos desarrollar hasta L3 en una placa multipocillos que contiene medio nutritivo

para el desarrollo de los huevos y larvas así como distintas concentraciones de AH.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾

- **Parálisis larval:** esta prueba refiere a la diferencia entre poblaciones resistentes y susceptibles evaluando la proporción de recuperación de la parálisis que ocasionan distintas concentraciones de levamisol en larvas no eclosionadas.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾

Otras técnicas *in vitro* de biología molecular. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y de reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa(RT-PCR por sus siglas en inglés) son pruebas altamente sensibles que utilizan respectivamente pequeñas cantidades de ADN y ARN, para detectar bajas frecuencias de genes resistentes en poblaciones susceptibles de parásitos.⁽³⁵⁾⁽³⁷⁾

IV. JUSTIFICACIÓN.

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) en los rumiantes representan uno de los problemas más comunes que enfrentan las unidades de producción bovina (UPB) en el trópico de mexicano. El método de control de estas parasitosis se basa en el uso de antihelmínticos (lactonas macrocíclicas, bencimidazoles e imidazotiasoles). Pero la eficacia de estos productos se ve comprometida por la resistencia generada por los NGI, lo cual obliga al productor a incrementar el número de aplicaciones de AH y/o disminuyendo los parámetros productivos (ganancia de peso diaria y/o producción láctea).

El fenómeno de resistencia AH se ha estudiado principalmente en pequeños rumiantes; pero en los últimos años el número de reportes de NGI de bovinos resistentes a los AH se ha incrementado.⁽⁴⁾ En México, existen pocos reportes de campo sobre la presencia de poblaciones de NGI a los AH (Encalada *et al.* 2008; Canul-Kuet *al.* 2012 y Arnaud y Alonso 2012); esta información puede ayudar a mejorar los programas de control de los NGI en bovinos y los índices productivos en las UPB. Esta resistencia antihelmíntica (RA) puede deberse al mal uso de los antihelmínticos (AH); por ejemplo, es común que al realizar la desparasitación con base en la estimación de peso se pueda ocasionar que se sub-dosifique o sobre-dosifique a los animales.

Es necesario que se genere información referente a la RA para conocer la eficacia de los productos comerciales, de la misma manera identificar los géneros de NGI resistentes con la finalidad de desarrollar mecanismos de control orientados y mejorar el uso de los productos químicos, he intentar contrarrestar el impacto económico ocasionado por la resistencia en los sistemas de producción.

V. HIPÓTESIS.

- Los bovinos de las unidades de producción de cinco municipios del centro del estado de Veracruz tienen poblaciones de nematodos gastrointestinales resistentes LM, IMZ y BZ.
- El mal uso de los antihelmínticos es el principal factor de riesgo asociado a la resistencia de nematodos gastrointestinales en unidades de producción de bovinos.
- Existen diferentes géneros de nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos utilizados en la ganadería.

VI. OBJETIVOS.

- Diagnosticaren los bovinos de unidades de producción de cinco municipios del centro del estado de Veracruz con NGI resistentes a los imidazotiasoles, lactonas macrocíclicas y bencimidazoles.
- Identificar factores que se relacionen o predispongan a la presencia de NGI resistentes a los AH en las unidades de producción bovina.
- Determinar los géneros de NGI resistentes a los diferentes tipos de fármacos utilizados para este estudio.

VII. MATERIAL Y METODOS.

7.1. Localización geográfica.

El estudio se realizó en unidades de producción de bovinos localizadas en la zona centro del estado de Veracruz abarcando los municipios de Vega de Alatorre, Tlapacoyan, Atzalan, Misantla, San Rafael y Martínez de la Torre, durante los meses de enero a octubre 2012.

Se evaluaron 15 unidades de producción bovina (478 animales) de las cuales 13 unidades cumplieron con los criterios de inclusión de acuerdo con la metodología de la prueba de reducción de huevos en heces de la W.A.A.V.P.⁽³⁵⁾

La selección y muestreo de los ranchos se realizó por conveniencia. Fueron incluidos ranchos con productores cooperantes que tuvieron el número de becerros de crianza infectados naturalmente con NGI.

Figura 2. Mapa de los municipios donde se realizaron los muestreos para el diagnóstico de resistencia de los nematodos gastrointestinales a los AH.



7.2. Animales experimentales y entrevistas.

En cada unidad seleccionada se utilizaron becerros pre-destete con una edad y peso aproximado de 3 a 8 meses y de 50 a 150 kg, respectivamente. Los criterios de inclusión fueron: 1) no haber sido desparasitados en por lo menos 60 días anteriores al estudio, 2) que estuvieran eliminando al menos 100 huevos por gramos de heces (HPGH)⁽³⁵⁾, 3) que de preferencia estuvieran identificados. Para detectar la presencia de NGI resistentes a los AH se utilizó la técnica de reducción de huevo en heces recomendada por la W.A.A.V.P.⁽³⁵⁾

Además, en cada unidad de producción de bovinos se realizó una entrevista semi-estructurada para obtener información sobre el uso de los antihelmínticos para identificar posibles factores de riesgo asociados a la resistencia antihelmíntica así como información sobre manejo general de la unidad de producción y sobre el uso de los AH (ej. dosis, frecuencia de tratamientos, principios activos). Para mayor información, se anexa la entrevista que se utilizó en las unidades de producción (Anexo 1).

7.3. Diseño Experimental.

En cada una de las 13 unidades de producción evaluadas, y de acuerdo con el número disponible de animales dentro de cada una, así como a los AH a evaluar, los becerros se distribuyeron balanceados por cargas parasitarias a los siguientes grupos experimentales: Grupo 1 Testigo, de 10 a 15 becerros que permanecieron sin tratamiento. Grupo 2, de 10 a 15 becerros que fueron tratados con Ivermectina (LM) vía subcutánea a una dosis de 0.2 mg por kg de PV.⁽²²⁾⁽²⁰⁾ Grupo 3, de 10 a 15 becerros que fueron tratados con Fenbendazol (BZ) vía oral a una dosis de 5.0 mg por kg de PV.⁽²²⁾ Grupo 4, de 10 a 15 becerros que fueron tratados con Levamisol (IMZ) vía intramuscular a una dosis de 7.5 mg por kg de PV.⁽²²⁾ Previo a cada tratamiento los animales se pesaron individualmente para aplicar la dosis correcta de acuerdo con su peso. En todas las unidades de producción se trató de ajustar el número de animales a 15 por grupo.

7.4. Toma de muestras de heces y análisis de laboratorio.

Se tomó una muestra de heces directamente del recto de cada becerro (aproximadamente 3 a 5 g) con una bolsa de polietileno que se colocó en cadena fría en un termo con refrigerante para su transporte al laboratorio de sanidad del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) donde se determinó el número de huevos de NGI por gramo de heces. El conteo de huevos se realizó mediante la técnica de McMaster modificada.⁽¹⁵⁾ Los muestreos se realizaron un día antes del tratamiento y 14 días después del mismo.⁽³⁵⁾ Se elaboró un coprocultivo antes y después del tratamiento para la identificación de géneros por medio de larva 3 presentes (pre-tratamiento) y que presentan resistencia (post-tratamiento) y después se realizó el cálculo de porcentaje de reducción.⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾

7.5. Análisis estadístico.

Para calcular el porcentaje de reducción de HPGH y el intervalo de confianza al 95% (IC95%) se utilizó el programa estadístico RESO.EXE®. La fórmula de reducción que se utilizó fue:

$$\%R = \frac{\bar{x}Te - \bar{x}Ta}{\bar{x}Te} \times 100$$

Donde: % R= porcentaje de reducción; $\bar{x}Te$ = media de los testigo; $\bar{x}Ta$ = media de los tratados.

Una población de NGI se consideró resistente cuando el %R de huevos fue menor al 95% y limite inferior del IC95% fue igual o inferior al 90%. Una población de NGI se considero bajo resistente cuando ocurrió sólo uno de los criterios anteriores⁽²⁶⁾⁽⁴¹⁾.

Para conocer el grado de asociación (razón de probabilidades/OR) entre las variables independiente (factores de riesgo) y la variable de respuesta (RA), los datos fueron dicotomizados y analizados en las tablas de contingencia (2x2) del

programa EpiInfo™ v 7.1.0.6. Se utilizó la prueba de Ji cuadrada para conocer el nivel de significancia entre cada asociación.

Las variables independientes con valores de $P \leq 0.20$ fueron incluidas en un análisis multivariado. En este estudio las variables que ingresaron al modelo de regresión logística fueron el fin zootécnico, sistema de producción, raza, dosis utilizadas, otra alternativa de control y renta de potreros.

Se utilizó el programa Statistix versión 9.0 para realizar el análisis de regresión logística a las variables independientes que tuvieran valores de $P \leq 0.20$ sobre la variable de respuesta en el análisis univariado. Las variables independientes ordinales y nominales fueron transformadas en variables Dummy para dicotomizarlas y analizarlas en el modelo de regresión logística. Se utilizó estadística descriptiva media y desviación estándar para las variables géneros de NGI.

VIII. RESULTADOS.

8.1 Prevalencia de unidades de producción bovina (UPB) con nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos.

La prevalencia de UPB con poblaciones de NGI resistentes y de baja resistencia a Imidazotiasoles (IMZ) fue del 72.72 % (8/11 ranchos) (Cuadro 3). El porcentaje de reducción de huevos en los ranchos con NGI resistentes a IMZ fue de 91%, 82%, 42%, 88% y en los ranchos con NGI con baja resistencia fue 95%, 98%, 96%, 97%. Solo hubo tres UPB con poblaciones de NGI susceptibles a los IMZ (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales y diagnóstico de resistencia a los imidazotiazoles en unidades de producción bovina de Veracruz, México.

Rancho	% de reducción de huevos	IC(95%)	Diagnósticos
1	91	20-99	R
2	82	0-97	R
3	98	91-99	S
4	42	0-86	R
5	88	60-97	R
6	95	85-99	BR
7	98	79-100	BR
8	96	64-100	BR
9	97	69-100	BR
10	100	-	S
11	100	-	S

IC(95%)= Intervalo de confianza al 95%; R= unidades de producción bovina (UPB) resistentes a los IMZ; BR= UPB con baja resistencia a las IMZ; S= UPB susceptible de resistencia a las IMZ.

La prevalencia de UPB con poblaciones de NGI resistentes a las lactonas macrocíclicas (LM) fue del 100% (5/5 ranchos) (cuadro 4). El porcentaje de reducción de huevos en los ranchos con problemas de NGI resistentes a LM fue de 3%, 27%, 90%, 82% y 67% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales y diagnóstico de resistencia a las lactonas macrocíclicas en unidades de producción bovina de Veracruz, México.

Rancho	% de reducción de huevos	IC(95%)	Diagnósticos
1	3	0-65	R
2	27	0-80	R
3	90	45-98	R
4	82	0-98	R
5	67	30-84	R

IC(95%)= Intervalo de confianza al 95%; R= unidades de producción bovina (UPB) resistentes a las LM; BR= UPB con baja resistencia a las LM; S= UPB susceptible de resistencia a las LM.

La prevalencia de ranchos con poblaciones de NGI con doble resistencia fue 15.38% (2/13). De los 13 ranchos evaluados, solo dos ranchos (15.38%) tuvieron NGI susceptibles a los AH evaluados. Para BZ solo se pudo evaluar el producto en una sola UPB la cual presentó poblaciones de NGI susceptibles y un porcentaje de reducción de 100%.

8.2 Manejo de los antihelmínticos en las unidades de producción bovina y los factores de riesgo relacionados a la resistencia.

En este estudio, de las 13 UPB evaluadas, el 46.2% (6/13) correspondió a un fin zootécnico de doble propósito y el sistema de producción predominante fue el extensivo con un 100% (13/13) (Figura 3). El 23.1% (3/13) de los productores recibe asesoría técnica al momento de administrar algún antiparasitario. Al momento del estudio la familia de AH más utilizada fueron las LM con el 76.9% (10/13), seguido de BZ con 53.8% (7/13) y los IMZ con 46.2% (6/13) (Figura 4). Respecto al manejo de los AH, se observó que el 84.6% (11/13) de los productores no pesa a los animales antes de administrar el AH; no obstante, el 69.2% (9/13) menciona que rota entre familias de AH. También se observó que ninguno de los productores utiliza otra alternativa para el control de parásitos y que el 46.2% (6/13) aplica tratamiento antihelmíntico a los animales de nuevo

ingreso. El 92.3% (12/13) de las UPB colindan con otra explotación, el 69.2% (9/13) que existe contacto de los bovinos propios con los vecinos y el 7.7% (1/13) que en los últimos dos años a realizado la renta de potreros en su UPB.

En este estudio no se encontró una asociación entre las variables de manejo general y manejo de antihelmínticos descritas en la sección 7.5 con la resistencia a los IMZ ($P < 0.05$).

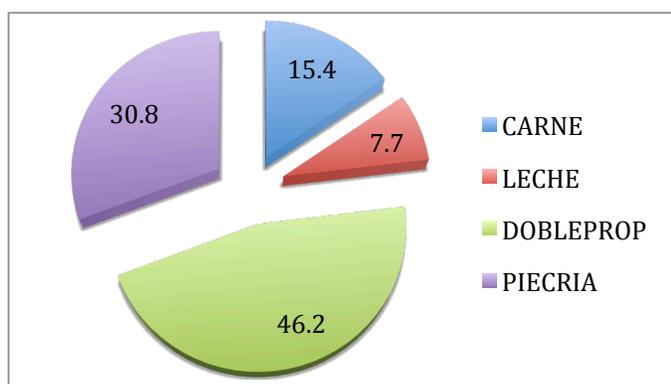


Figura 3. Distribución del fin zootécnico en las unidades de producción bovina evaluadas en el trópico húmedo de Veracruz, México.

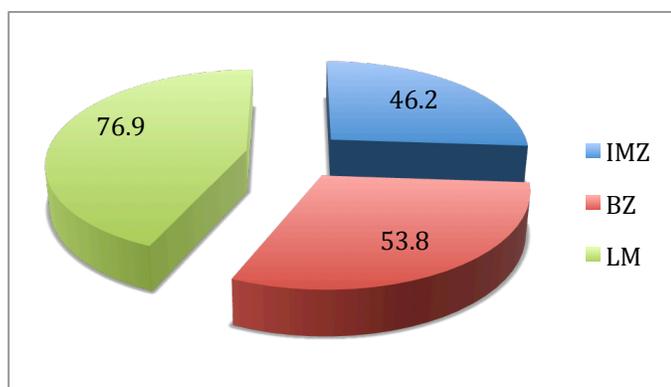


Figura 4. Porcentaje de antihelmínticos utilizados en las diferentes unidades de producción bovina evaluadas en este estudio.

8.3 Géneros de nematodos gastrointestinales resistentes a los antihelmínticos en unidades de producción bovina.

La prevalencia de géneros de NGI que se encontraron en las UPB evaluadas se muestran en la Figura 5. *Cooperia spp* fue el género de NGI que se identificó en la mayoría de los casos de RA en las UPB.

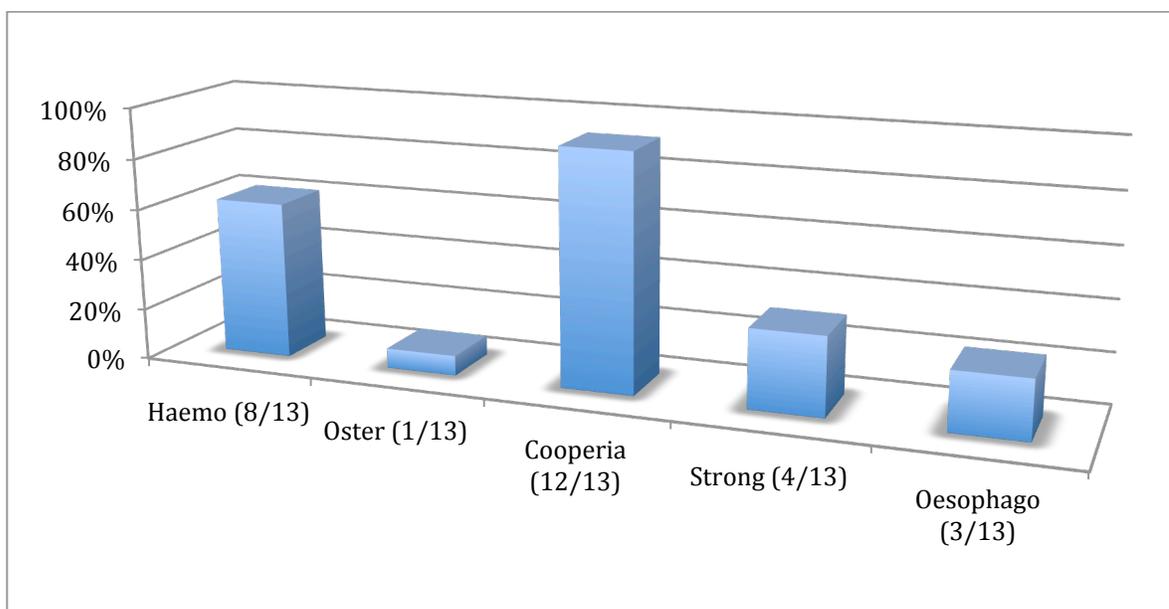


Figura 5. Prevalencia de NGI en las unidades de producción tratadas con AH. Haemo: *Haemonchus spp*, Oster: *Ostertagia spp*, Strong: *Strongyloides spp*, Oesophago: *Oesophagostomum*

Los géneros de NGI resistentes a las IMZ que se identificaron en las unidades de producción bovina fueron *Haemonchus spp* 63.6% (7/11), *Cooperia spp* 81.8% (9/11), *Oesophagostomum spp* 9.1% (1/11), *Ostertagia spp* 9.1 % (1/11) y *Strongyloides spp* 45.5% (5/11) (Figura 6).

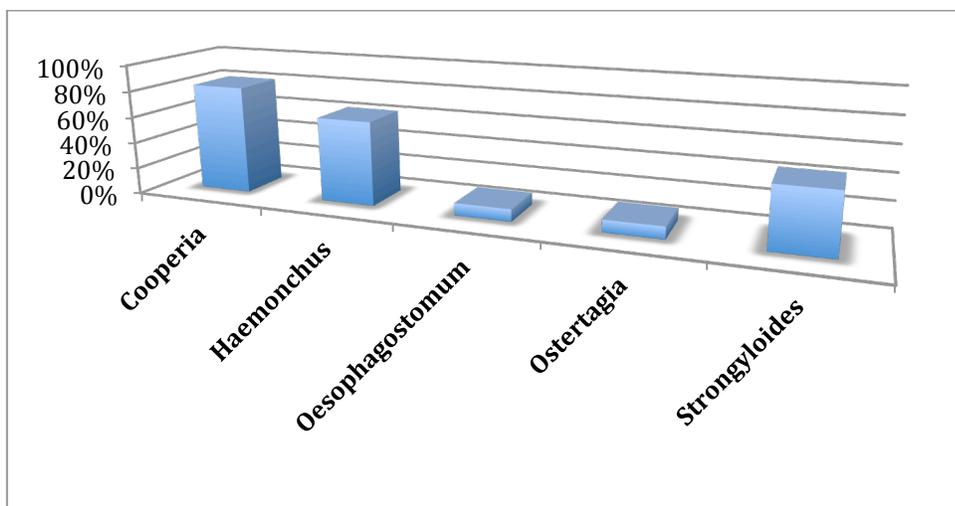


Figura 6. Prevalencia de NGI en las unidades de producción tratadas con imidazotiasoles

Los géneros de NGI resistentes a las LM que se identificaron en las unidades de producción bovina fueron *Haemonchus spp* 60% (3/5), *Cooperia spp* 100% (5/5) y *Oesophagostomum spp* 20% (1/5) (figura 8).

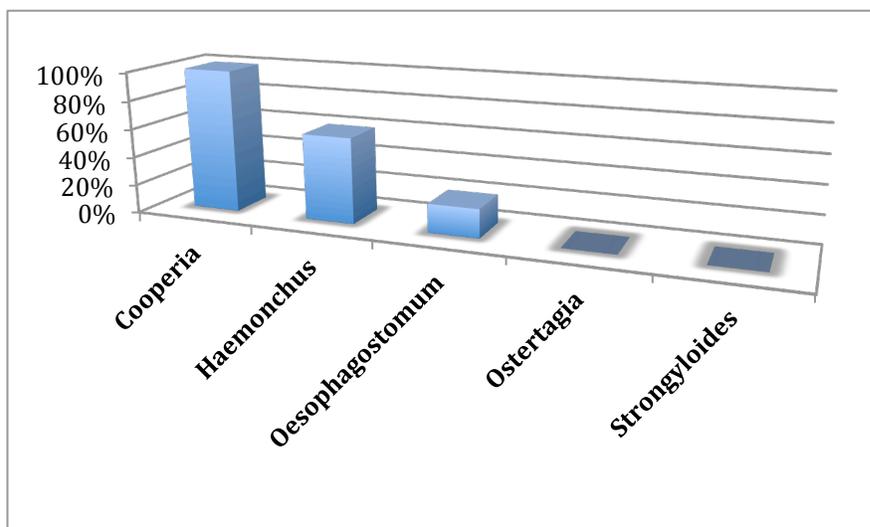


Figura 7. Prevalencia de NGI en las unidades de producción tratadas con lactonas macrocíclicas

IX. DISCUSIÓN.

La resistencia antihelmíntica en las unidades de producción de rumiantes en pastoreo (ovinos, caprinos y bovinos) es un problema que se ha expandido a nivel mundial.⁽³¹⁾ Existen pocos o nulos reportes de NGI resistentes a los imidazotiasoles en bovinos. El primer objetivo de este estudio fue diagnosticar unidades de producción de bovinos con NGI resistentes a los imidazotiasoles, lactonas macrocíclicas y bencimidazoles. De un total de 11 UPB evaluadas con IMZ, el 72.72% (8/11) tuvo poblaciones de NGI resistentes. Hasta nuestro conocimiento, este es el primer reporte de poblaciones de NGI resistentes a los IMZ en unidades de producción bovina en México (y posiblemente a nivel mundial). Se encontró un solo estudio publicado⁽⁴²⁾ donde reportaron que dos UPB de un total de 39 (5.1%) presentaron poblaciones de NGI resistentes a los IMZ. Sin embargo, también se observaron diferencias entre este estudio y el nuestro que pudieron haber influido en los resultados. Por ejemplo, en el estudio de Souza *et al.* (2008) la dosis de los IMZ fue de 5 mg / kg de PV mientras que en este estudio se utilizó a una dosis de 7.5 mg / kg de PV. De acuerdo con varios autores, la dosis recomendada para el control de NGI es 7.5 mg / kg de peso vivo.⁽¹⁰⁾⁽²²⁾⁽²⁵⁾⁽²⁹⁾ De esta forma, es posible que en el trabajo de Souza el diagnóstico de resistencia a los IMZ pudo estar confundido con la subdosificación del producto. La subdosificación de un antihelmíntico permite que un porcentaje de NGI adultos puedan sobrevivir en el hospedero y que continúen eliminando huevos en las heces.⁽³⁶⁾ La presencia de huevos viables en heces después de la administración de un antihelmíntico es indicativo de resistencia siempre y cuando se aplique a las dosis recomendadas.⁽³⁵⁾

El mecanismo de resistencia a los IMZ no se conoce en su totalidad. Se supone que la resistencia se produce por cambios en las propiedades de las poblaciones de nematodos en sus receptores nicotínicos⁽²³⁾ a través de una alteración en la unión de estos con los fármacos en las células musculares de los NGI⁽¹⁹⁾. Existen poblaciones de *Haemonchus contortus*, *Caenorhabditis elegans* y *Oesophagostomum dentatum* que tienen menor número de receptores nicotínicos activos⁽²³⁾⁽⁴³⁾, por lo que los canales activos de los nematodos permanecen menos

tiempo abiertos, produciendo una menor despolarización y por consiguiente una menor contracción.⁽⁴⁴⁾ También existen reportes de una mutación de punto que consiste en reemplazar el ácido glutámico por lisina en la posición 237 en el poro iónico del receptor nicotínico⁽⁴⁵⁾ lo cual es suficiente para cambiar el canal iónico de catiónico a aniónico convirtiéndolo de canal excitatorio a canal inhibitorio.⁽⁴⁶⁾ Este punto de mutación produciría un aumento en la desensibilización del receptor colinérgico⁽⁴⁷⁾ y reduciría la afinidad por LVM resultando poco potente como agonista.⁽²¹⁾

Con relación al diagnóstico de poblaciones de NGI resistentes a las LM, en este estudio se encontró que el 100% de las UPB evaluadas (5/5) tuvieron NGI resistentes. Durante los últimos años se han realizado varios estudios para diagnosticar la presencia de resistencia a las LM a nivel mundial.⁽²⁵⁾⁽²⁹⁾⁽³³⁾⁽³¹⁾⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾

La prevalencia de UPB con poblaciones de NGI resistentes a las LM en este estudio, fue superior a lo reportado por Márquez *et al.* (2008) en Colombia donde el 8 % de las UPB (3/36) presentaron NGI resistentes a las LM.⁽³¹⁾ Existen algunos factores metodológicos que pudieron influir en los resultados entre estudios; ya que de acuerdo con la W.A.A.V.P. (por sus siglas en inglés), para evaluar la resistencia antihelmíntica a las LM, mediante la prueba de reducción de huevos en heces, se recomienda realizar el muestreo de 14 a 17 días post-tratamiento a la administración del producto que es cuando ocurre el efecto de esterilización de las LM (metodología que se utilizó en el presente estudio) (Coles *et al.*, 2006). En el estudio de Márquez *et al.* (2008), la evaluación pos-tratamiento se realizó 10 días después de la administración de las LM y es probable estas diferencias metodológicas puedan influir en los resultados de resistencia reportados.

Otros estudios han reportado resultados de prevalencia de UPB con NGI resistentes a las LM similares a los del presente trabajo. Canul-Kuet *al.*(2012) en Yucatán y Arnaud (2011) en Veracruz, México reportaron que el 100 % (14/14 considerando UPB con baja resistencia)⁽²⁵⁾ y el 87.5 % (14/16) de las UPB evaluadas tuvieron poblaciones de NGI resistentes a las LM, respectivamente. Estudios a nivel mundial (Brasil, Argentina, Colombia, Australia, Alemania, Bélgica,

Suecia, Estados Unidos,) también han reportado elevadas prevalencias de UPB con nematodos resistentes a las LM.⁽⁵⁾⁽¹⁰⁾⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾

Los resultados previamente citados muestran que el problema de resistencia a las LM a nivel mundial y en México en un situación que existe y se ha expandido a través de los años por lo que es importante tomar medidas preventivas antes de la movilización de animales con poblaciones de NGI resistentes entre UPB así como difundir buenas prácticas en el uso de AH entre profesionistas y/o productores. Se ha observado que el número de aplicaciones, la calidad de la ivermectina así como la forma de su uso influye sobre la presentación de la resistencia AH. Uno de los factores que más puede afectar es el número de veces que se utiliza en el año y el efecto residual de la misma en comparación a otros AH⁽⁵¹⁾; dependiendo de la vía de aplicación de las LM, el periodo residual puede ser mayor a los 100 días.⁽³⁵⁾ Esto implica que durante un amplio periodo de tiempo los niveles de la droga en sangre están por debajo de los niveles terapéuticos requeridos para eliminar los NGI existentes y/o las nuevas infecciones en consecuencia existen parásitos que están en contacto con el AH sin afectar su viabilidad (situación parecida a la subdosificación).⁽⁵²⁾ Un posible mecanismo de resistencia a las LM es que los parásitos adultos producen más receptores GLU aumentando la unión específica de este ligando. El ligando GLU en poblaciones de *Haemonchus contortus* atenúa el efecto inhibitorio de LM sobre el bombeo faríngeo. También se le ha relacionado con la disminución en la permeabilidad de la cutícula de los nematodos resistentes a estos fármacos.⁽¹⁹⁾

Debido a la dificultad que se presentó a la disponibilidad de animales en las UPB para los BZ solo se logro evaluar una, la cual resultó susceptible. Este resultado contrasta con lo reportado por varios autores quienes informan que la resistencia de NGI a los BZ es uno de los problemas más fuertes en las UPB.⁽⁵⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁶⁾⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾ No obstante, es necesario seguir evaluando más ranchos para poder hacer una inferencia más real a nivel de campo, similar a lo que reportó Arnaud y Alonso-Díaz (2012). Posiblemente el mecanismo de resistencia de los NGI a los BZ han sido el más estudiado durante los últimos años.

Se han identificados 2 tipos de isotipos de B-tubulina: isotipo 1 e isotipo 2 que corresponden a genes por separado.⁽⁵³⁾ La resistencia se ha asociado a cambios genéticos principalmente en el isotipo 1 donde se han observado tres cambios de aminoácidos en el isotipo 1 de β -tubulina entre *H. contortus* susceptibles⁽⁵⁴⁾ y resistentes⁽⁵⁵⁾ (en la posición 76, donde fenilalanina es reemplazada por la valina; en la posición 200 donde fenilalanina fue reemplazada por tirosina; en la posición 368 donde valina reemplaza a isoleucina).⁽¹⁶⁾ La selección para resistencia a BZ surge de la pérdida de susceptibilidad más que de la adquisición de un nuevo mecanismo molecular.⁽⁵⁶⁾ Esto se ve reflejado en esa disminución de la unión específica de los BZ con la consecuente disminución de su efecto farmacológico.⁽¹⁹⁾

El segundo objetivo del presente estudio fue identificar factores que se relacionen o predispongan a la presencia de NGI resistentes a los AH en las UPB. Dentro de los factores que se han asociado a la resistencia AH están: 1) el movimiento de animales con NGI resistentes entre UPB, 2) la frecuencia o número de desparasitaciones en el año, 3) la dosificación (subdosificación – sobredosificación), 4) así como la falta de rotación de productos, entre otros.⁽²⁵⁾

En este trabajo no se encontró ningún factor asociado a la presencia de resistencia AH a los IMZ. No obstante, se observó que existen malas prácticas en el uso de los AH en las UPB. Por ejemplo, se observó que el 84.6% (11/13) de los productores no pesa a los animales antes de administrar el AH. Esto implica que la dosificación del producto no se realice de acuerdo a la posología recomendada y que posiblemente un elevado porcentaje de animales se sub-dosifiquen. Se ha documentado que la subdosificación de los AH es uno de los factores que más influye sobre la presencia de NGI resistentes en las unidades de producción.⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾

Se sugiere realizar y difundir entre los productores de bovinos del trópico información sobre las buenas prácticas en el uso de los AH con la finalidad de disminuir o controlar el fenómeno de resistencia así como para optimizar su uso para que se produzca proteína de origen animal libre de residuos químicos.

El tercer objetivo de este estudio fue determinar los géneros de NGI resistentes a los diferentes tipos de fármacos utilizados para este estudio.

Los géneros de NGI resistentes a las IMZ que se identificaron en las unidades de producción bovina fueron *Haemonchus spp* 63.6% (7/11), *Cooperia spp* 81.8% (9/11), *Oesophagostomum spp* 9.1% (1/11), *Ostertagia spp* 9.1 % (1/11) y *Strongyloides spp* 45.5% (5/11).

Los géneros de NGI resistentes a las LM que se identificaron en las unidades de producción bovina fueron *Haemonchus spp* 60% (3/5), *Cooperia spp* 100% (5/5) y *Oesophagostomum spp* 20% (1/5). *Cooperia spp* fue el género de NGI que se identificó en la mayoría de los casos de RA en las UPB.

Para el caso de los IMZ, este es el primer reporte de géneros de NGI resistentes. Para LM, existen estudios donde se han reportado poblaciones de *Haemonchus spp*⁽¹⁾⁽²⁶⁾⁽²⁹⁾⁽³³⁾⁽¹⁷⁾, *Ostertagia spp*⁽²⁹⁾ y *Cooperia spp*⁽¹⁾⁽⁵⁾⁽²⁹⁾⁽³³⁾. Existen factores que pueden influir sobre la presencia de géneros de NGI resistentes entre estudios; por mencionar algunos, está la epidemiología de los NGI en diferentes nichos ecológicos, la dinámica poblacional de los parásitos, las prácticas de medicina preventiva y de control en las UPB así como el historial en el uso de los AH.⁽⁵⁹⁾

X. CONCLUSIONES.

Se concluye que las unidades de producción de bovinos en cinco municipios del centro del estado de Veracruz tienen poblaciones de NGI resistentes a los IMZ y a las LM.

En este trabajo no se encontró algún factor de riesgo relacionado entre el mal uso de los AH y la resistencia; sin embargo, se sugiere implantar medidas de bioseguridad en las UPB para evitar la difusión de los NGI resistentes así como instrumentar buenas prácticas en el uso de los antihelmínticos.

Es necesario continuar realizando estudios de prevalencia de NGI resistentes en campo para obtener información sobre los factores de riesgo en más UPB así como estudios que involucren el sacrificio de algunos animales con la finalidad de conocer el género y especie de los NGI resistentes en el trópico de México.

Cooperia spp fue el género de nematodo gastrointestinal que se identificó con mayor frecuencia presentando una resistencia a los antihelmínticos en las unidades de producción bovina en la zona centro del estado de Veracruz.

XI. REFERENCIAS.

1. Encalada MLA, López AME, Mendoza GP, Liéban HE, Vázquez PV, Vera YG. Primer informe en México sobre la presencia de resistencia a ivermectina en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales. *Veterinaria México*. 2008;39(4):423–8.
2. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Resistencia a los Antiparasitarios: Estado Actual con Énfasis en América Latina. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación; 2003.
3. Coles GC. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases? *Veterinary Research*. 2002 Oct;33(5):481–9.
4. Kaplan RM. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology*. 2004 Oct;20(10):477–81.
5. Fiel CA, Saumell CA, Steffan PE, Rodriguez EM. Resistance of *Cooperia* to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa, Argentina. *Veterinary Parasitology* 2001 Jun 12;97(3):211–7.
6. Vercruysse J, Rew RS. *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. Oxon, UK; New York, NY: CABI Pub.; 2002
7. Waller PJ. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. *Veterinary Parasitology*. 2006 Jun 30;139(1-3):1–14.
8. Leathwick DM, Waghorn TS, Miller CM, Candy PM, Oliver AMB. Managing anthelmintic resistance – Use of a combination anthelmintic and leaving some lambs untreated to slow the development of resistance to ivermectin. *Veterinary Parasitology*. 2012 Jun;187(1-2):285–94.
9. Vial H., Traore M, Fairlamb A., Ridley R. Renewed Strategies for Drug Development against Parasitic Diseases. *Parasitology Today*. 1999 Oct 1;15(10):393-394
10. Arnaud ORA. Prevalencia de unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos así como factores de riesgo asociados a la resistencia en el trópico veracruzano [tesis de licenciatura].

[México]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.

11. Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: Limusa; 1984.
12. Kassai T, Sánchez A. Helminología veterinaria. Zaragoza, España: Editorial Acribia; 2002.
13. Márquez LD. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control. Bogotá: Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria); 2007.
14. Mateus VG. Parásitos internos de los bovinos: su naturaleza y prevención, con énfasis en doble propósito. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza; 1983.
15. Besné M, Figueroa C, Quiroz R, Guadarrama R, Ramos M. Manual de prácticas de laboratorio de parasitología. México: UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Parasitología; 2006.
16. Waller PJ. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. 1997 Nov;72(3–4):391–412.
17. Arece J, Mahieu M, Archimède H, Aumont G, Fernández M, González E, et al. Comparative efficacy of six anthelmintics for the control of gastrointestinal nematodes in sheep in Matanzas, Cuba. *Small Ruminant Research*. 2004 Aug;54(1-2):61–7.
18. Torres AJF, Villarreal AMS, Rodríguez AF, Gutiérrez SI, Alonzo DMA. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales resistentes a bencimidazoles e imidazotiazoles en un rebaño caprino de Yucatán, México. *Revista Biomedica*. 2003;14(2):75–81.
19. Mottier L, Lanusse C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. *Revista de Medicina Veterinaria*. 2001;82(2):74 – 85.
20. Adams HR. Farmacología y terapéutica veterinaria. Zaragoza: Acribia; 2003.
21. Martin RJ. Modes of action of anthelmintic drugs. *Vet. J*. 1997 Jul;154(1):11–34.
22. Plumb D. Manual de farmacología veterinaria. Sexta Edición. Buenos Aires:

Intermedica; 2010.

23. Robertson AP, Bjorn HE, Martin RJ. Resistance to levamisole resolved at the single-channel level. *The Journal of the Federation American Societies for Experimental Biology*. 1999;13(6):749–60.
24. Lacey E. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology*. 1988 Nov;18(7):885–936.
25. Canul KHL, Rodríguez VRI, Torres AJFJ, Aguilar CAJ, Pérez CLC, Ojeda CMM. Prevalence of cattle herds with ivermectin resistant nematodes in the hot sub-humidtropics of Mexico. *Veterinary Parasitology*. 2012 Feb;183(3-4):292–8.
26. Arnaud ORA, Alonso DMA. Unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes al albendazol (Benzimidazoles) en México. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 2012 Jul;22(4):315–20.
27. Soutello RGV, Seno MCZ, Amarante AFT. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in north western São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2007 Sep 30;148(3–4):360–4.
28. Anziani O., Suarez V, Guglielmone A., Warnke O, Grande H, Coles G. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. *Veterinary Parasitology*. 2004 Aug;122(4):303–6.
29. Suarez VH, Cristel SL. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Veterinary Parasitology*. 2007 Mar 15;144(1–2):111–7.
30. Sievers G, Alocilla A. Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos del bovino en dos predios del sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 2007;39(1):67 – 69.
31. Márquez D, Jiménez G, García F, Garzón C. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en municipios de Cundinamarca y Boyacá. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2008;9(1):113–23.
32. Moreno FC, Gordon IJ, Knox MR, Summer PM, Skerrat LF, Benvenuto MA, et al. Anthelmintic efficacy of five tropical native Australian plants against

- Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis in experimentally infected goats (Caprahircus). *Veterinary Parasitology*. 2012 Jun;187(1-2):237–43.
33. Lyndal MM, Rogers D, Ehrlich WK, James PJ, Pepper PM. Reduced efficacy of macrocyclic lactone treatments in controlling gastrointestinal nematode infections of weaner dairy calves in subtropical eastern Australia. *Veterinary Parasitology*. 2010 Feb 26;168(1–2):146–50.
34. Geary TG, Thompson DP, Klein RD. Mechanism-based screening: discovery of the next generation of anthelmintics depends upon more basic research. *International Journal for Parasitology*. 1999 Jan;29(1):105–12.
35. Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, von Samson-Himmelstjerna G, Silvestre A, et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 2006 Mar;136(3-4):167–85.
36. Jabbar A, Iqbal Z, Kerboeuf D, Muhammad G, Khan MN, Afaq M. Anthelmintic resistance: The state of play revisited. *Life Sciences*. 2006 Nov;79(26):2413–31.
37. Cutullé C, Eddi C, Caracostantologo J, Castaño Zubieta R, Schapiro J. Métodos in vitro para el diagnóstico de resistencia antihelmintica. *Revista Veterinaria Argentina*. 1999;XVI(157):514 – 521.
38. Rodríguez V, Cob G, Domínguez A. Técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria. Merida, Yucatan. México: Universidad Autonoma de Yucatán; 1994.
39. Great Britain. Ministry of Agriculture F and F. Manual of veterinary parasitological laboratory techniques. 3rd ed. London, England: H.M.S.O.; 1986.
40. Bowman DD, Lynn RC, Georgi JR. *Georgis' parasitology for veterinarians*. St. Louis, Mo.: Saunders; 2003.
41. Corner LA, Bagust TJ, CSIRO, Agricultural Council of Australia and New Zealand. and Agricultural Council of Australia and New Zealand. Australian standard diagnostic techniques for animal diseases / Standing Committee on Agriculture and Resource Management. Melbourne: CSIRO Australia on behalf of the Standing Committee on Agriculture and Resource Management (SCARM); 1993.

42. Mejía ME, Fernández Igartúa BM, Schmidt EE, Cabaret J. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance? *Veterinary Research*. 2003 Aug;34(4):461–7.
43. Condi GK, Soutello RGV, Amarante AFT. Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2009 May 12;161(3–4):213–7.
44. Demeler J, Van Zeveren AMJ, Kleinschmidt N, Vercruyse J, Höglund J, Koopmann R, et al. Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastrointestinal nematodes of cattle in Northern Europe. *Veterinary Parasitology*. 2009 Mar;160(1-2):109–15.
45. Pereira SA, Itaqi RC, Valdomiro, Sartor AA, Schelbauer CA. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, Santa Maria. 2008 Agosto;38(5):1363–7.
46. Lewis JA, Elmer JS, Skimming J, McLafferty S, Fleming J, McGee T. Cholinergic receptor mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Neuroscience*. 1987 Oct;7(10):3059–71.
47. Martin JR, Robert AP. Electrophysiological investigation of anthelmintic resistance. *Parasitology*. 2000 May;120(07):87–94.
48. Fleming JT, Squire MD, Barnes TM, Tornoe C, Matsuda K, Ahnn J, et al. *Caenorhabditis elegans* levamisole resistance genes *lev-1*, *unc-29*, and *unc-38* encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits. *J. Neurosci*. 1997 Aug 1;17(15):5843–57.
49. Galzi JL, Devillers-Thiéry A, Hussy N, Bertrand S, Changeux JP, Bertrand D. Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor conversion selectivity from cationic to anionic. *Nature*. 1992 Oct 8;359(6395):500–5.
50. Revah F, Bertrand D, Galzi JL, Devillers-Thiéry A, Mulle C, Hussy N, et al. Mutations in the channel domain alter desensitization of a neuronal nicotinic receptor. *Nature*. 1991 Oct 31;353(6347):846–9.
51. Edmonds MD, Johnson EG, Edmonds JD. Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States. *Veterinary Parasitology*. 2010 Jun;170(3-4):224–9.
52. George N, Persad K, Sagam R, Offiah VN, Adesiyun AA, Harewood W, et

- al. Efficacy of commonly used anthelmintics: First report of multiple drug resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in Trinidad. *Veterinary Parasitology*. 2011 diciembre;183(1–2):194–7.
53. Días CMS, Espuny A, Escudero E, Cárceles CM. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas. *Anales de veterinaria de Murcia*. 13(14):3 – 22.
54. Lubega GW, Klein RD, Geary TG, Prichard RK. *Haemonchus contortus*: The role of two β -tubulin gene subfamilies in the resistance to benzimidazole anthelmintics. *Biochemical Pharmacology*. 1994 Apr;47(9):1705–15.
55. Geary TG, Nulf SC, Favreau MA, Tang L, Prichard RK, Hatzenbuehler NT, et al. Three beta-tubulin DNAs from the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1992 Feb;50(2):295–306.
56. Kwa MS, Kooyman FN, Boersema JH, Roos MH. Effect of selection for benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* on beta-tubulin isotype 1 and isotype 2 genes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1993 Mar 15;191(2):413–9.
57. Roos MH, Kwa MSG, Grant WN. New genetic and practical implications of selection for anthelmintic resistance in parasitic nematodes. *Parasitology Today*. 1995 Apr;11(4):148–50.

XII ANEXOS.

Entrevista

I. Datos generales

No. _____

Municipio _____ Nombre del Rancho _____
Propietario _____ Encuestado _____

Fin Zootécnico	Carne ¹	Leche ²	Doble Proposito ³	Pie de Cria ⁴
Sistema de producción	Intensivo ¹		Semi-Intensivo ²	Extensivo ³
Razas del Ganado	Cebú ¹		Cebú x Europeo ²	Europeo ³

Tamaño del Hato	Vientres _____	Toros _____	Becerras _____	Novillos _____
-----------------	----------------	-------------	----------------	----------------

II. Uso y manejo de los Antihelmínticos

¿Utiliza algún antiparasitario? SI¹ NO⁰

¿Cuenta con asesoría técnica cuando aplica el antiparasitario? SI¹ NO⁰

¿Qué antiparasitario utiliza?

¿Cual es el principio activo? IMZ₁ BZ² LM³

¿Cuanto tiempo lleva utilizando este producto?

¿Qué dosis utiliza?

Laboratorio Asesor Otra Cual _____

¿Con que frecuencia utiliza el tratamiento antiparasitario?

	Mensual	Trimestral	Semanal	Anual	Otro
Adultos					
Desarrollo					
Crianza					

Realiza pesaje antes de desparasitar

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

En caso negativo, ¿como calcula la dosis? _____

Durante los últimos cuatro años ha realizado rotación de productos

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

Con que productos ha realizado la rotación _____

¿Cual fue la decisión para cambiar el producto? _____

Utiliza otra alternativa para el control de parásitos

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

¿Cuál es? _____

Aplica tratamiento antiparasitario a animales que ingresan

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

Aplica el mismo tratamiento a los animales de nuevo ingreso

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

Su explotación limita con otras explotaciones ganaderas

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

Existe contacto de los bovinos vecinos con los suyos

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------

Durante los dos últimos años ha realizado renta de potreros

SI ¹	NO ⁰
-----------------	-----------------