

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Dildo Márquez¹, Gabriel Jiménez²,
Fredy García³ y Clara Garzón⁴

ABSTRACT

Anthelmintic resistance in gastrointestinal bovine nematodes in municipalities of Cundinamarca and Boyaca (Colombia)

A study was conducted in 36 farms of the Bogotá Savannah, Ubaté and Chiquinquirá Valleys and Tequendama Region (Cundinamarca), to determine via *in vivo* egg reduction count test (ERCT) anthelmintic resistance to bovine gastrointestinal nematodes. Resistance was determined in 40 calves, three to 12 months of age, allotted to four groups of ten animals each one: 1) control (untreated); 2) albendazol 25% (5 mg/kg); 3) ivermectin 1% (0.2 mg/kg) and 4) levamisol 18.8% (1 mg/kg). By feces cultivation techniques, six genera were identified, *Cooperia spp.* being the predominant one. Resistance was determined when the ERCT was below 95% and the lowest 95% confidence interval limit was 90. Resistance was found in 25% of the farms: albendazol and ivermectin resistance was detected in 17% and 8% of the farms, respectively. *Cooperia spp.* was involved in both compounds. Average egg per gram (epg) of feces reduction after treatments with ivermectin, albendazol and levamisol, was 97.89% ± 6% (66% - 100%); 95.9% ± 9.3% (51% - 100%) and 99.4% ± 0.92% (97.6 - 100%), respectively. Resistance to levamisol was not detected. Risk factors associated with resistance were: worming of adult cattle, wrong dosage regarding body weight and use of the same active ingredient for more than four years.

Key words: Anthelmintic resistance, gastrointestinal nematodes, bovine, anthelmintics.

Radicado: marzo 28 de 2008
Aceptado: junio 6 de 2008

1. Investigador, Programa de Salud Animal, Centro de Investigación en Salud Animal –CEISA– (Bogotá D.C.). CORPOICA. e-mail: dmarquez@corpoica.org.co
2. Investigador, Grupo Pecuario, Centro de Investigación Tibaitatá. CORPOICA. e-mail: gjimenez@corpoica.org.co
3. Investigador, Programa de Salud Animal, Centro de Investigación en Salud Animal –CEISA– (Bogotá D.C.). CORPOICA. e-mail: fgarcia@corpoica.org.co
4. Investigadora, Programa de Salud Animal, Centro de Investigación en Salud Animal –CEISA– (Bogotá D.C.). CORPOICA. e-mail: cgarzon@corpoica.org.co

Resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en municipios de Cundinamarca y Boyacá

RESUMEN

En 36 fincas lecheras de la Sabana de Bogotá, los Valles de Ubaté y Chiquinquirá y la Región del Tequendama (Cundinamarca, Colombia) se determinó la resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos mediante la prueba *in vivo* de la reducción del conteo de huevos (RCH). En cada finca se seleccionaron 40 bovinos de tres a 12 meses de edad, los cuales se distribuyeron en cuatro grupos de 10 animales: 1) control (no tratado), 2) albendazol 25% (dosis: 5 mg/kg peso vivo), 3) ivermectina 1% (0,2 mg/kg) y 4) levamisol 18,8% (1 mg/kg). En cada grupo se identificaron mediante coprocultivos seis géneros de parásitos siendo *Cooperia spp.* el predominante. La resistencia se declaró cuando el porcentaje de RCH fue menor de 95% y el límite inferior del intervalo de confianza (95%), menor a 90. El 25% de las fincas presentó resistencia: en 17% se detectó resistencia al albendazol y en 8% a la ivermectina; para estos dos antihelmínticos, *Cooperia spp.* fue el nematodo gastrointestinal involucrado. El promedio de reducción de huevos por gramo de heces (hpg), luego de los tratamientos con ivermectina, albendazol y levamisol, fue de 97,89% ± 6% (66% - 100%), 95,9% ± 9,3% (51% - 100%) y 99,4% ± 0,92% (97,6% - 100%), respectivamente. No se detectó resistencia al levamisol. Los factores de riesgo asociados con la resistencia fueron: vermifugación de bovinos adultos, dosificación no acorde con el peso de los animales y uso de un mismo principio activo por un tiempo mayor de cuatro años.

Palabras clave: Resistencia antihelmíntica, nematodos gastrointestinales, bovinos, antihelmínticos.

INTRODUCCIÓN

UNA LIMITANTE DE IMPORTANCIA económica para el desarrollo de la ganadería bovina bajo las condiciones del trópico son las infestaciones por parásitos gastrointestinales (Mottier y Lanusse, 2008), que se reflejan en baja conversión alimenticia, pérdida del apetito y retraso en el crecimiento de los bovinos, lo que deriva en pérdidas económicas para los ganaderos (Sangster, 2001). El control de los parásitos ha sido ineficientemente porque no se han establecido criterios técnicos integrales y se han usado exclusivamente compuestos químicos por largo tiempo (McKellar, 1997, Lumaret y Martínez, 2005, Floate, 2006). Esta situación se agudiza si se tiene en cuenta que la disponibilidad comercial de nuevos antiparasitarios está comprometida por la aparición de resistencia y por los cada vez mayores costos que implica la investigación y desarrollo de nuevas moléculas antihelmínticas (Coles, 2002b; Besier, 2006).

La resistencia antihelmíntica se define como la habilidad que tiene una cepa de individuos para tolerar dosis tóxicas de

medicamentos que serían letales para la mayoría de individuos de una población normal de la misma especie. La resistencia es de naturaleza genética (Jackson, 1993; Kaplan, 2004), y es un problema que se ha convertido en un asunto de vital importancia en la industria ganadera debido a que se ha venido extendiendo de manera alarmante en la última década. La mayor prevalencia de resistencia en el mundo se presenta en las especies ovina y caprina (Waller, 1995, 1997; Fiel *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 2005).

El problema de resistencia antihelmíntica se está expandiendo a la mayoría de los principios químicos, lo que representa una amenaza a la viabilidad de la industria pecuaria (Coles *et al.*, 2006; Leathwick, 2001). En equinos y bovinos la resistencia no ha alcanzado los niveles que se observan en los pequeños rumiantes, pero existen evidencias que indican que el problema también se está extendiendo (Coles, 2002a; Mejía *et al.*, 2003), lo que constituye un peligro para los ingresos económicos de los ganaderos (Vercruysse y Dorny, 1999; Waller, 1999; Van Wyk y Bath, 2002).

Los tratamientos frecuentes, la subdosificación, el tamaño de la población de parásitos 'en refugio' y las rotaciones inadecuadas de los compuestos químicos, son los factores que con mayor frecuencia se asocian con el origen y la evolución de la resistencia en animales (Jackson, 1993; Van Wyk, 2001; Anziani, 2003).

En muchos países se ha venido reportando fenómenos de resistencia a los benzimidazoles, las avermectinas y los imidazotiazoles. Igualmente, se ha reportado resistencia a drogas de menor espectro como las salicilanilidas (Jackson, 1993). En Europa la resistencia a los antihelmínticos se asocia con el grupo de los benzimidazoles en cabras y ovejas y, en menor escala, en caballos, principalmente en Escocia. En tal sentido fue Jackson (1993) quien comprobó la primera evidencia de resistencia a la ivermectina en Europa y el primer caso de resistencia múltiple en Gran Bretaña.

En Australia, el problema de resistencia a los benzimidazoles, al levamisol/morantel y las lactonas macrocíclicas, así como los elevados niveles de resistencia múltiple, tornan crítica la situación; se han llegado a reestructurar los planes de control parasitario (Waller, 1995) o incluso, se ha abandonado la actividad de la industria ovina por las fallas en el control de los nemátodos.

Los reportes de resistencia antihelmíntica en bovinos son menos conocidos que los existentes en los pequeños rumiantes, lo que ha dado pie para creer que este problema no tiene importancia todavía en los sistemas de producción bovina del mundo. Sin embargo, se conocen informaciones sobre la presencia de altos niveles de resistencia a la ivermectina-milbemycinina en *Cooperia spp.*, lo cual permite suponer que este problema en nematodos de bovinos podría ser más común de lo que se cree (Coles, 2002a).

La resistencia de los nematodos gastrointestinales de los bovinos a los antihelmínticos se está extendiendo en los continentes europeo, americano y a Oceanía. En este último se conocen reportes de Nueva Zelanda (Leathwick *et al.*, 2001) en los que se informa de la resistencia de *C. oncophora* a los benzimidazoles y la ivermectina. Así mismo, en el Reino Unido se

ha reportado la detección de resistencia del género *Cooperia* a las avermectinas. Se conocen dos casos de resistencia a la ivermectina detectados en América del Norte, en los cuales *Ostertagia spp.* y *Trichostrongylus spp.* son los parásitos más involucrados en este proceso, y en menor medida, *Cooperia spp.* y *Haemonchus spp.* La misma información da cuenta del caso de resistencia múltiple de *Haemonchus* a la ivermectina y a los benzimidazoles (Conder, 1998).

En Suramérica, la resistencia a los antihelmínticos en nematodos de bovinos está cobrando importancia en Argentina y Brasil. En este último país se ha detectado resistencia de *Haemonchus spp.* al oxfendazol y al albendazol (Pinheiro y Echevarría, 1990), y de *Cooperia spp.* a la ivermectina (Paiva *et al.*, 2002). Recientemente, Soutello *et al.* (2007) reportaron cepas de *Haemonchus spp.* y *Cooperia spp.* resistentes a la ivermectina y a un benzimidazol, señalando, al mismo tiempo, la ocurrencia de resistencia múltiple al albendazol, el levamisol y la ivermectina.

En Argentina, a partir del año 2000 se detectaron los primeros casos de resistencia de nemátodos de bovinos. Anziani *et al.* (2004) reportaron el primer caso de resistencia de *Haemonchus spp.* a la ivermectina y el benzimidazol. En la región Pampeana del mismo país, Suárez y Cristel (2007) corroboraron resistencia de *Cooperia spp.* al albendazol y a la ivermectina. Desde 2003 se tiene conocimiento de casos de resistencia multiespecie y multidroga en la región Pampeana. Un estudio realizado en un predio de esa región demostró la resistencia de *C. punctata*, *O. ostertagi* y *H. placei* a los benzimidazoles, en tanto que *C. oncophora* resultó resistente a ivermectinas y benzimidazoles. De acuerdo con los autores del estudio, la aparición de este problema se derivó de un uso intensivo de antihelmínticos, la ausencia de población refugio y a la frecuente circulación de bovinos infectados en esa zona (Mejía *et al.*, 2003).

Debido a que en Colombia se desconoce la magnitud del fenómeno de la resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos, el presente estudio se diseñó con los objetivos de determinar el estatus de resistencia antihelmíntica en el sistema de producción

lechera del trópico de altura andino, identificar los factores de riesgo que sustentan su surgimiento, establecer los costos económicos ocasionados por los tratamientos para controlar los endoparásitos y las enfermedades asociadas a éstos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre mayo de 2004 y marzo de 2007 en 36 fincas del sistema de producción de lechería especializada de la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y Chiquinquirá —específicamente en los municipios de El Colegio, Facatativá, Lenguazaque, Mosquera, Sibate, Simijaca, Sopó, Susa, Tocancipá y Ubaté en el departamento de Cundinamarca—, así como en el Alto Chicamocha —en los municipios de Chiquinquirá y San Miguel de Sema— del departamento de Boyacá (Figura 1).

Se seleccionaron 36 fincas porque cumplieron con los siguientes requisitos: que tuvieran mínimo 50 bovinos menores de 12 meses de edad, que en un recuento exploratorio de huevos por gramo (*hpg*) el número mínimo fuera 100 y que la media de los recuentos de *hpg* de los grupos conformados fuera superior a 1.500; la población debía alimentarse exclusivamente con forrajes y no debían haber recibido antihelmínticos en las últimas seis semanas antes del inicio del estudio. De las 36 fincas estudiadas, 12 estaban ubicadas en la región de la Sabana de Bogotá, 20 en los Valles de Ubaté y Chiquinquirá, tres (3) en el municipio de Lenguazaque y una (1) en El Colegio; esta última estaba dedicada al sistema de producción de carne. Mediante una encuesta se obtuvo información general sobre el área de los predios, su ubicación, población animal, grupos etáreos, frecuencia de aplicación de antihelmínticos, drogas aplicadas en los últimos años, el esquema de control de los parásitos internos, la dosificación de los antiparasitarios, los criterios usados para la vermifugación y otros eventos relacionados con el manejo.

En los predios que cumplieron con los requisitos se practicaron tres visitas: en la primera se realizó el recuento exploratorio de *hpg* de parásitos gastrointestinales en materia fecal de los bovinos; en la segunda se aplicaron los tratamientos

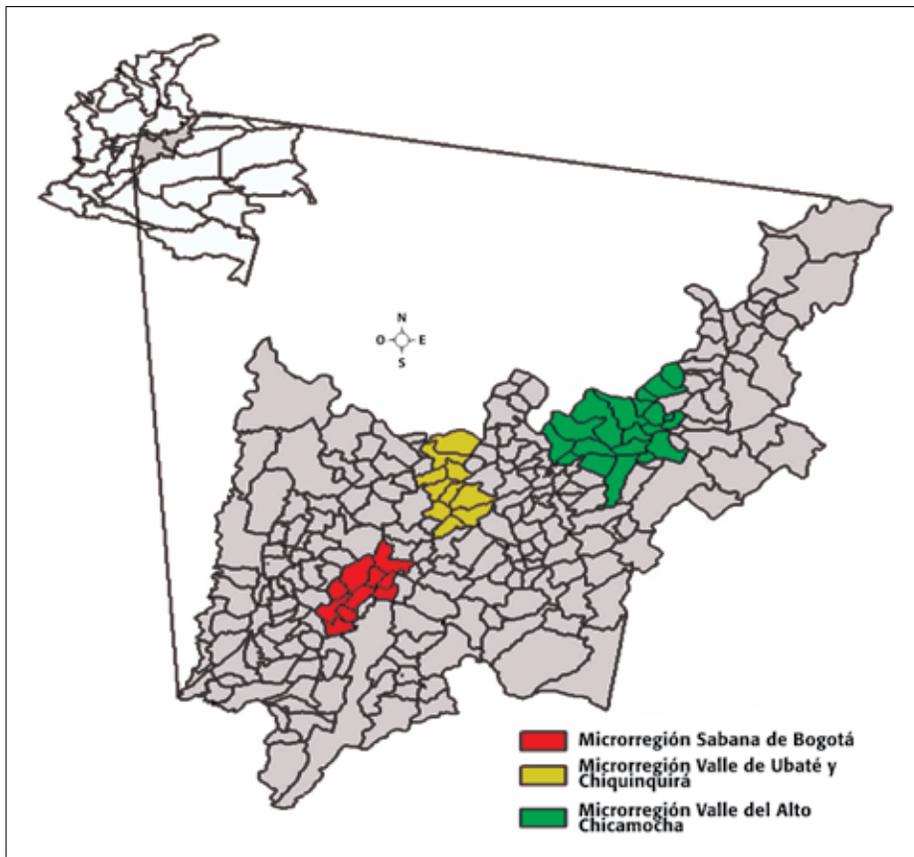


Figura 1. Microrregiones en las que se estudió la prevalencia del desarrollo de resistencia a los antihelmínticos en hatos de lechería especializada del trópico de altura (2007).

antihelmínticos; y en la tercera, 10 días después, se implementó un segundo y último muestreo de *hpg* postratamientos. Durante la primera visita a cada finca se colectaron muestras de heces a todos los bovinos menores de 12 meses de edad pertenecientes a la raza Holstein Friesian a condición que estuvieran debidamente identificados. Se conformaron cuatro grupos de diez animales cada uno que se homogeneizaron con base en el recuento de *hpg* antetratamiento, de manera tal que los promedios de *hpg* de los grupos no fueran significativamente diferentes. A cada grupo se asignó al azar uno de los siguientes cuatro tratamientos: albendazol 25% (Bovex®, California) a la dosis de 5 mg·kg⁻¹; ivermectina 1% (Ivomec®, Merial) a la dosis de 0,2 mg·kg⁻¹; levamisol 18,8% (Ripercol®, Fort Dodge) a la dosis de 1 mg·kg⁻¹, además de un grupo control no tratado.

Cada animal se pesó con una báscula portátil y el tratamiento se dosificó de acuerdo con las instrucciones de los laboratorios fabricantes. Previamente se

tomaron muestras (200 gramos, aproximadamente) de materia fecal del recto de los bovinos en bolsas de polietileno rotuladas, actividad que se repitió después de 10 días. Las muestras fueron inmediatamente transportadas en neveras de icopor hasta el laboratorio para aplicarles un proceso individual de recuento de huevos de trichostrongylidos mediante la técnica modificada de McMaster descrita por Coles *et al.* (1992). El diagnóstico de los géneros de nematodos se hizo mediante coprocultivo siguiendo la misma técnica, mientras la identificación de las larvas (L3) se llevó a cabo de acuerdo con sus características morfológicas. Para cada grupo (control y tratados) se hicieron homogeneizados de heces y se sometieron a la prueba.

Los datos se almacenaron en los programas Excel® y SAS®. El porcentaje de reducción de huevos (RCH) en cada uno de los grupos postratamiento se calculó usando la fórmula desarrollada por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP, sigla

en inglés): $RCH_1 = 100 [1 - (T / C)]$, en la que T y C son los promedios aritméticos de los recuentos en los grupos tratados y en el control no tratado. Para la realización de estos cálculos se hizo uso del programa (*software*) RESO®. De acuerdo con la WAAVP, se considera que se presenta resistencia si el porcentaje de reducción de huevos resulta inferior a 95% y si el límite inferior del intervalo de confianza (95%) es menor de 90. En las fincas en que uno de estos dos criterios estuviera presente se consideraba un predio con resistencia sospechosa (Coles, 1992, 2006; FAO, 2004).

El cálculo para determinar la resistencia se hizo usando la fórmula $RCH_2 = 100 [1 - (T_2 / T_1 \times C_1 / C_2)]$, en la que T y C son los promedios aritméticos de los grupos control y tratado, y los subíndices 1 y 2 designan los recuentos antes y después de los tratamientos, respectivamente. Los resultados de las fórmulas empleadas fueron comparados para identificar el grado de correlación entre éstos. Los factores de riesgo se determinaron haciendo uso del método de regresión logística: análisis univariado y multivariado.

En el análisis univariado la finca representó la unidad de análisis. Para el estudio de cada una de las variables se utilizó una regresión logística univariada (valor *p* entre el resultado de interés o 'resistencia' y cada una de las variables predictoras). Una prueba de Chi-cuadrado se aplicó a todas las variables consideradas en el estudio. En este primer paso se seleccionó un nivel de significancia de 0,25 para que las variables fueran retenidas para el modelo multivariado.

El análisis multivariado es una estrategia orientada a la reducción del modelo y se utilizó para obtener el modelo principal mediante la prueba de *likelihood ratio* (LR). Este modelo también examinó términos *confounding* y de interacción, y se hizo por comparación sucesiva entre los coeficientes estimados en el nuevo modelo con los coeficientes y el LR del modelo anterior. Ninguna combinación de variables fue significativa en la regresión multivariada.

Los costos de vermifugación se establecieron en cada empresa ganadera con base en el precio de mercado de los

antihelmínticos, la dosis aplicada según las recomendaciones de los laboratorios productores y los resultados de la encuesta. Así mismo, la mano de obra destinada a las jornadas de vermifugación se estimó con el criterio de costo de oportunidad y se establecieron rangos de 0,5 hasta 4 jornadas para los tratamientos con promedio de $1,3 \pm 0,7$ y mediana de un jornal. El costo de oportunidad derivado de la asesoría del médico veterinario en la selección y la aplicación del antihelmíntico y la orientación técnica, se estimó como cero, consenso al cual llegó el equipo de investigación, dadas las características regionales de la interacción ganadero-asistente técnico. En efecto, para los eventos de vermifugación, la asesoría técnica es informal y ocasional, y no se asemeja a las relaciones que se establecen en las asesorías de tipo reproductivo, nutricional, forrajes o gestión, pues no hay desembolsos específicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de la encuesta

En los predios estudiados el único método para el control del parasitismo gastrointestinal es el uso de antihelmínticos: los benzimidazoles, el levamisol y las lactonas macrocíclicas son los medicamentos de elección más común en los últimos cinco años en aquellas zonas lecheras. Con relación a la importancia otorgada a los parásitos en la producción y la economía de las empresas, el 40% de los ganaderos prioriza el tratamiento de los parásitos pulmonares, el 37,1% señala la *Fasciola hepatica*, y el 22,9% a las lombrices intestinales. Un 40% de propietarios informa que sus animales suelen enfermar por parasitismo gastrointestinal, especialmente en las épocas de lluvia.

En el 66% de las fincas se desparasitan los bovinos con base en concepto técnico, mientras que el 34% lo hace con criterio personal. El 64% de los productores tienen en cuenta el criterio de peso corporal para la dosificación del producto, pero el 36% restante no lo hace. El 62,9% utiliza un solo producto en el momento de vermifugar, y el 37,1% utiliza dos o más productos. Al establecer el criterio del ganadero sobre la eficacia del fármaco utilizado, el 48,6% considera que en la actualidad ha mejorado la eficacia los productos antiparasitarios, el 11,4%

manifiesta que la eficacia es igual y el 40% considera que ésta se ha reducido.

La frecuencia de tratamientos a los bovinos menores de 12 meses de edad es marcadamente diferente en las distintas explotaciones: en algunos se aplican sólo dos tratamientos anuales mientras que en otros se usan de manera intensiva (en 20 realizan de seis a nueve tratamientos anuales, en seis tratan a los animales con antihelmínticos mensualmente y las nueve restantes aplican menos de seis tratamientos por año). Por lo general, los animales adultos se desparasitan dos veces al año y, en particular, a las vacas se les vermifuga un mes después del parto. Los administradores de los predios reportaron que la razón por la cual el uso de antihelmínticos sigue ocupando un papel central en el control de los parásitos es la facilidad de administración de estas sustancias químicas, en particular los de reciente aparición comercial, siendo notoria la ausencia de criterios técnicos que orienten la toma de decisiones; es evidente que las decisiones están supeditadas a las recomendaciones de los almacenes distribuidores de productos veterinarios y/o de los laboratorios farmacéuticos, que suelen sugerir prácticas de control erradas.

Con relación a la alternancia de los antihelmínticos, en una finca éstos se cambian cada dos años, mientras que en las 35 fincas restantes ello se hace en intervalos menores de un año, siendo indiferente que la sustitución sea de principios activos o de nombres comerciales de los

medicamentos. Esta situación cobra gran importancia debido a que la intensidad de los tratamientos y los cambios inadecuados de los antihelmínticos en corto tiempo, favorece con frecuencia el surgimiento de cepas de parásitos resistentes a esos compuestos químicos (Van Wyk, 2001; Anziani, 2003).

La ocurrencia de resistencia se indagó en todas fincas tomando como base 2.880 muestras de materia fecal procedentes de una población total de 10.956 bovinos. La media aritmética de los recuentos de *hpg* (RCH_1) fue de 386 antes de la aplicación de los tratamientos con rango de 100 a 2.050, mientras el promedio de reducción de *hpg* (RCH_2) luego de los tratamientos con ivermectina, albendazol y levamisol fue de $97,89 \pm 6\%$ (rango: 66% a 100%), $95,9 \pm 9,3$ (rango: 51% a 100) y $99,4\% \pm 0,92\%$ (rango: 97,6% a 100%), respectivamente, según se observa en la Tabla 1.

El 25% (nueve fincas) presentó resistencia, así: 17% (6 fincas) al albendazol y 8% (3 fincas) a la ivermectina. El promedio de reducción de *hpg* en el grupo de fincas con resistencia al albendazol fue de $79,4 \pm 14,6$ (rango: 51,4 a 93,3), mientras que la media de reducción de *hpg* en el grupo de predios que presentaron resistencia a la ivermectina fue de $83,9 \pm 15,5$ (rango: 66 a 93,5). Se observó similitud en los porcentajes de reducción de *hpg* al emplear las fórmulas RCH_1 y RCH_2 , excepto en los casos en que se presentó resistencia al albendazol (Tablas 2, 3 y 4). No se detectó resistencia al levamisol.

Tabla 1. Promedios totales de RCH en las fincas con y sin resistencia antihelmíntica.

Grupo	Ivermectina		Albendazol		Levamisol	
	RCH_1	RCH_2	RCH_1	RCH_2	RCH_1	RCH_2
Total RCH						
Promedio	97,97	97,89	96,1	95,9	99,5	99,4
DS	5,8	6,05	9	9,4	0,9	0,93
Total RCH sin RA						
Promedio	99,27	99,27	99,46	99,62	99,5	99,45
DS	1,06	1,05	0,9	0,9	0,9	0,92
Total RCH con RA						
Promedio	83,93	83,16	79,46	74,11		
DS	15,54	15,77	14,6	25,32		

RCH: reducción del conteo de huevos; DS: desviación estándar; RA: resistencia antihelmíntica.

Tabla 2. Promedios de *hpg* en los grupos control y tratados (pre y postratamiento), y porcentaje de reducción de *hpg* (RCH) empleando las fórmulas RCH₁ y RCH₂ (pre y postratamiento) en 35 grupos de bovinos tratados con ivermectina.

Finca No.	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas en el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH ₁ (95% IC)	RCH ₂
	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>		
1	11	300	11	281	11	295	11	0	100a	100a
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	10	450	10	465	10	30	94 (62-99)c	93,5 (62-99)c
4	10	265	10	285	10	205	10	0	100a	100a
5	10	200	10	185	10	240	10	0	100a	100a
6	11	550	11	545	11	554	11	4,5	99 (93-100)a	99,2 (99-100)a
7	11	500	11	504	11	495	11	9	99 (92-100)a	99,1 (92-100)a
8	10	240	10	250	10	250	10	5	98 (83-100)b	98 (83-100)a
9	10	372	10	377	10	377	10	5	100a	100a
10	11	259	11	268	11	313	11	4,5	99 (88-100)b	98,6 (88-100)a
11	10	425	10	405	10	365	10	0	100a	100a
12	11	418	11	413	11	413	11	4,54	99 (90-100)a	98,9 (91-100)a
13	13	388	13	384	13	384	13	0	100a	100a
14	11	504	11	500	11	645	11	0	100a	100a
15	10	230	10	215	11	320	11	0	100a	100a
16	11	550	11	550	11	716	11	0	100a	100a
17	8	300	8	306	8	281	8	6,25	98 (80-100)b	97,8 (80-100)a
18	8	400	8	395	8	395	8	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	5	99 (90-100)a	98,8 (98-100)a
20	10	415	10	410	10	405	10	5	98 (78-100)b	97,5 (78-100)b
21	10	170	10	170	10	185	10	0	100a	100 ^a
22	8	237	8	200	8	243	8	18	92 (29-99)c	92,3 (26-99)a
23	11	431	11	427	11	450	11	4,54	99 (91-100)a	99 (92-100)a
24	11	463	11	468	11	481	11	4,54	99 (91-100)a	99,1 (92-100)a
25	10	295	10	260	10	295	10	0	100a	100a
26	10	340	10	340	10	345	10	10	97 (74-100)b	97,1 (74-100)b
27	10	220	10	220	10	215	10	0	100a	100a
28	10	345	10	335	10	530	10	180	66 (27-84)c	66 (27-84)c
29	10	620	10	615	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	354	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	225	10	250	10	10	96 (83-99)b	96 (83-99)b
32								No aplica		
33	10	235	10	235	10	290	10	5	98 (85-100)b	98,3 (85-100)b
34	10	295	10	275	10	745	10	0	100a	100a
35	10	335	10	300	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	375	10	400	10	0	100a	100a

a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente; n: número de bovinos por grupo. RA: resistencia antihelmíntica.

Tabla 3. Promedios de *hpg* en los grupos control y tratados (pre y postratamiento), y porcentaje de reducción de *hpg* (RCH) empleando las fórmulas RCH₁ y RCH₂ (pre y postratamiento) en 35 grupos de bovinos tratados con albendazol.

Finca No.	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas en el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH ₁ (95% IC)	RCH ₂
	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>		
1	11	300	11	281	11	295	11	0	100a	100a
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	8	415	8	465	8	5	99 (91-100)a	98,9 (91-100)a
4	10	265	10	265	10	205	10	90	51(0-85)c	56,1(-34-86)c
5	10	200	10	200	10	240	10	5	98 (84-100)b	97,9(82-100)b
6	11	550	11	536	11	554	11	4,5	99,2 (93-100)a	99,1a
7	11	500	11	495	11	495	11	4,5	99 (91-100)a	99,1 (92-100)a
8	10	240	10	240	10	250	10	0	100a	100a
9	10	372	10	377	10	377	10	4,5	99 (90-100)a	98,8 (98-100)a
10	11	259	11	268	11	313	11	50	84 (57-94)c	84,1 (57-94)c
11	10	425	10	425	10	365	10	15	96 (67-100)b	95,9 (64-100)b
12	11	418	11	418	11	413	11	4,5	99 (90-100)a	98,9 (91-100)a
13	13	388	13	392	13	384	13	0	100a	100a
14	11	504	11	413	11	645	11	4,5	99,3 (94-100)a	99,1a
15	10	230	10	225	11	320	11	0	100a	100a
16	11	550	11	550	11	716	11	0	100a	100a
17	8	300	8	287	8	281	8	19	94 (81-98)c	93,3 (78-98)c
18	11	400	11	390	11	395	11	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	0	100a	100a
20	10	415	10	410	10	405	10	5	99 (89-100)b	98,8 (89-100)b
21								No aplica		
22	8	237	8	200	8	243	8	0	100a	100a
23	11	431	11	418	11	450	11	0	100a	100a
24	11	463	11	459	11	481	11	5	99,1 (92-100)a	99a
25	10	295	10	230	10	295	10	65	78 (12-94)c	71,7 (11-94)c
26	10	340	10	310	10	345	10	0	100a	100a
27	10	220	10	215	10	220	10	0	100a	100a
28	10	345	10	320	10	530	10	5	99 (92-100)a	99,1 (92-100)a
29	10	620	10	610	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	350	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	195	10	250	10	0	100a	100a
32	10	185	10	190	10	285	10	0	100a	100a
33	10	235	10	245	10	290	10	40	86 (0-98)c	86,2 (-26-98)a
34								No aplica		
35	10	335	10	280	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	400	10	400	10	65	84 (30-96)c	83,8 (30-96)c

a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente; n: número de bovinos por grupo. RA: resistencia antihelmíntica.

Tabla 4. Promedios de *hpg* en los grupos control y tratados (pre y postratamiento), y porcentaje de reducción de *hpg* (RCH) empleando las fórmulas RCH₁ y RCH₂ en 35 grupos de bovinos tratados con levamisol.

Finca No.	Pretratamiento				Postratamiento				Fórmulas empleadas en el cálculo de la RA	
	Control		Tratado		Control		Tratado		RCH ₁ (95% IC)	RCH ₂
	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>	n	Prom <i>hpg</i>		
1									No aplica	
2	11	268	11	268	11	290	11	0	100a	100a
3	10	445	10	420	10	465	10	0	100a	100a
4	10	265	10	265	10	205	10	0	100a	100a
5	10	200	10	185	10	240	10	0	100a	100a
6	11	550	11	540	11	554	11	4,5	99 (93-100)a	99,2 (93-100)a
7	11	500	11	504	11	495	11	0	100a	100a
8									No aplica	
9	10	372	10	377	10	377	10	0	100a	100a
10	11	259	11	268	11	313	11	4,5	99 (88-100)b	98,6 (88-100)b
11	10	425	10	405	10	365	10	0	100a	100a
12	11	418	11	422	11	413	11	0	100a	100a
13	13	388	13	384	13	384	13	4	99 (92-100)a	99 (92-100)a
14	11	504	11	495	11	645	11	0	100a	100a
15	10	230	10	235	10	320	10	0	100a	100a
16	12	550	12	550	12	716	12	4	99 (95-100)a	99,4 (95-100)a
17	8	300	8	293	8	281	8	6	98 (80-100)b	97,8 (80-100)a
18	11	400	11	395	11	395	11	0	100a	100a
19	10	400	10	400	10	415	10	0	100a	100a
20	10	415	10	405	10	405	10	5	99 (89-100)b	98,8 (89-100)b
21	10	170	10	190	10	185	10	0	100a	100a
22	8	237	8	200	8	243	8	0	100a	100a
23	11	431	11	427	11	450	11	0	100a	100a
24	11	463	11	459	11	481	11	0	100a	100a
25	10	295	10	295	10	295	10	0	100a	100a
26	10	340	10	350	10	345	10	0	100a	100a
27	10	220	10	220	10	215	10	5	98 (80-100)b	97,7 (80-100)b
28	10	345	10	325	10	530	10	5	99 (92-100)a	99,1 (92-100)a
29	10	620	10	590	10	615	10	0	100a	100a
30	11	350	11	350	11	359	11	0	100a	100a
31	10	220	10	220	10	250	10	10	96 (83-99)b	96 (83-99)b
32	10	185	10	190	10	285	10	0	100a	100a
33	10	235	10	250	10	290	10	5	98 (85-100)b	98,3 (85-100)a
34	10	295	10	265	10	745	10	0	100a	100a
35	10	335	10	310	10	235	10	0	100a	100a
36	10	390	10	390	10	400	10	5	99 (90-100)b	98,8 (89-100)b

a: susceptible; b: sospechosa; c: resistente; n: número de bovinos por grupo. RA: resistencia antihelmíntica.

No se observaron diferencias fundamentales en los porcentajes de reducción de *hpg* al usar las dos fórmulas cuando la comparación se hizo con el total de fincas estudiadas y entre las fincas que no presentaron resistencia antihelmíntica, pues se constató alta correlación entre los resultados de las dos fórmulas empleadas. Lo anterior sugiere la complementariedad de estas dos fórmulas, lo cual es de utilidad para la implementación de pruebas de eficacia antihelmíntica en nuestro medio. Además, estos resultados concuerdan con los reportados por Suárez y Cristel (2007) en Argentina. Sin embargo, dicha correlación alta no se presentó en los resultados de aquellas fincas que resultaron positivas a resistencia (Tabla 5), lo cual se asimila a los resultados de estudios llevados a cabo en otros países en los que se usan pruebas *in vivo* basadas en recuentos de *hpg* (Maingi *et al.*, 1996). Lo anterior hace evidente la necesidad de corroborar estos resultados posteriormente recurriendo a otras pruebas como la de eficacia controlada o las pruebas *in vitro* de motilidad larval y eclosión de huevos.

Los resultados de la presente investigación muestran que el problema de la resistencia a los antihelmínticos en bovinos se está extendiendo por el mundo (Taylor *et al.*, 2002; Samson-Himmelstjerna, 2006); se señala que los pocos reportes disponibles sobre esta problemática en poblaciones de bovinos obedece probablemente, y entre otras razones, a una infrecuente realización de investigaciones.

Seis variables exhibieron una asociación alta con la variable 'resistencia' ($P <$

0,05); de ellas, 'vermifugar a los animales adultos', 'no dosificar de acuerdo con el peso vivo de los animales' y 'usar un único principio activo por tiempo superior a cuatro años', resultaron ser los principales factores de riesgo que determinan la ocurrencia de este problema. De éstos, las variables 'vermifugar a animales adultos' y 'no dosificar de acuerdo con el peso vivo de los animales' hacen parte de los factores que actualmente se mencionan como los principales causantes de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes. Estos factores afectan el tamaño de la población de nematodos que se encuentran en refugio, entendida ésta como la subpoblación de parásitos que no entra en contacto con el compuesto químico por no ser objeto de medidas de control (Van Wyk, 2001).

La población en refugio juega un rol más importante en la selección para resistencia antihelmíntica que otros factores comúnmente mencionados como la frecuencia de los tratamientos (Van Wyk y Bath, 2002; Silvestre *et al.*, 2002; Gilleard, 2006). Ello se debe a que el desarrollo de la resistencia depende fundamentalmente de qué tanto contribuyen los parásitos, que sobreviven a un tratamiento a la próxima generación de nematodos. Cuando el refugio es grande, las larvas que son ingeridas por los hospedadores son pocas en relación con las que quedan en las praderas luego del pastoreo. Aquellas larvas que no fueron ingeridas mantienen sus características de susceptibilidad de manera que, en futuras infecciones, se mezclarán los genes de susceptibilidad provenientes de las larvas que quedaron en el refugio con los genes de resistencia de las larvas

provenientes de progenitores que fueron seleccionados por los antihelmínticos; esta situación origina híbridos con características de susceptibilidad, lo cual retrasa la aparición de poblaciones de nematodos resistentes. La mezcla de los parásitos que sobreviven a los tratamientos con los que permanecen en las praderas constituye lo que se denomina 'dilución', siendo entonces importante y necesario el efecto de la dilución para detener el surgimiento de la resistencia cuando los antihelmínticos son aún efectivos (Coles, 2005).

Cuando el refugio es pequeño, gran parte, o todas las larvas, serán ingeridas por los hospedadores en un período corto de tiempo, seleccionando sus genes al tener contacto con los antiparasitarios y desapareciendo casi en su totalidad el refugio, acelerándose el desarrollo de la resistencia. Típicamente, un refugio pequeño es el que existe en una pradera en la cual el pasto es consumido en su totalidad por los bovinos antes de pasar a un nuevo potrero. En este contexto, el factor 'vermifugar a los animales adultos' constituye factor de riesgo en la medida que vermifugar a los animales adultos implica que gran parte de los parásitos de las fincas se exponen a las sustancias químicas, lo que reduce la población en refugio y, por lo tanto, acelera el desarrollo de resistencia en esos predios.

Así mismo, el factor 'desparasitación con base en la estimación del peso de los animales' es factor de riesgo por cuanto se parte del supuesto que esta práctica implica que los animales pueden ser subdosificados con el antihelmíntico usado; al respecto se afirma que las subdosificaciones puede constituir factor de generación de resistencia por cuanto éstas permiten la sobrevivencia de parásitos resistentes y parásitos heterocigotos con genes de resistencia (Leathwick *et al.*, 2001) en praderas que continuamente van a ser contaminadas con larvas provenientes de las poblaciones resistentes que sobreviven a los tratamientos.

Usar 'un antihelmíntico por largo tiempo' también constituyó factor de riesgo que desencadena resistencia pero al respecto existe controversia en el mundo. Se considera que el uso frecuente de un mismo antihelmíntico ejerce una eficiente presión de selección para el advenimiento

Tabla 5. Correlaciones entre los RCH (como *hpg*) obtenidos de las fórmulas RCH₁ y RECH₂ en 36 fincas lecheras (9 fincas con resistencia y 27 sin resistencia a los antihelmínticos) de trópico alto andino.

Grupo	Benzimidazol	Ivermectina	Levamisol
Total fincas (n)	34	35	34
Correlación	0,99**	0,99**	0,99**
R ²	0,98	0,98	0,98
Fincas sin resistencia (n)	28	32	34
Correlación	0,99**	0,99**	0,99**
R ²	0,98	0,98	0,98
Fincas con resistencia (n)	6		
Correlación	0,87		
R ²	0,75 NS		

** : Índice de correlación significativo ($P < 0,01$); NS: índice de correlación no significativo.

de resistencia en nematodos que tienen la habilidad de sobrevivir a determinado compuesto químico. El fenómeno contrario ocurre cuando se alternan los antihelmínticos, puesto que se reduce la presión de selección que ejerce el medicamento (Silvestre *et al.*, 2002). En este estudio, usar 'más de un antihelmíntico por tiempo prolongado' resultó ser una práctica riesgosa debido posiblemente a que los antihelmínticos empleados pertenecían al mismo grupo (benzimidazoles), de acuerdo con lo reportado en las encuestas.

Los productores señalaron que, en las 36 fincas, el empleo de lactonas macrocíclicas y de benzimidazoles supera los cinco años de uso, que estos compuestos químicos se usan en todos los animales menores de 12 meses de edad y que, en ocasiones, compraban animales como reemplazo. Estas situaciones podrían indicar que la resistencia detectada pudo haber sido seleccionada en las mismas fincas o introducida en ellas por la llegada de nuevos animales.

Según Van Wyk y Bath (2002), el factor más importante para la aparición de resistencia a los antihelmínticos es la población en refugio. Si se tiene en cuenta que todos los animales menores de un año de edad son frecuentemente tratados con antiparasitarios durante varios años y que pastorean en las mismas pasturas, es de esperar que los huevos de nematodos excretados provengan de los parásitos que sobreviven a los tratamientos antihelmínticos, con la consecuente predicción de la población en refugio, situación que podría explicar así mismo el desarrollo de resistencia que se observó en las fincas (Sissay *et al.*, 2006).

Cooperia spp., *Ostertagia spp.*, *Haemonchus spp.*, *Trichostrongylus spp.*, *Oesophagostomum spp.* y *Bunostomum spp.* fueron los seis géneros de nematodos gastrointestinales identificados en las 36 fincas, destacándose el predominio de *Cooperia spp.* sobre los demás (Figura 2). Se observó que la participación porcentual de estos endoparásitos es similar, tanto en el conjunto de las 36 fincas, como en las microrregiones de Sabana de Bogotá, valle de Ubaté y los municipios de Simijaca, Susa y Chiquinquirá. Estas observaciones confirman lo que recientemente se ha venido observando en las regiones en las cuales este estudio

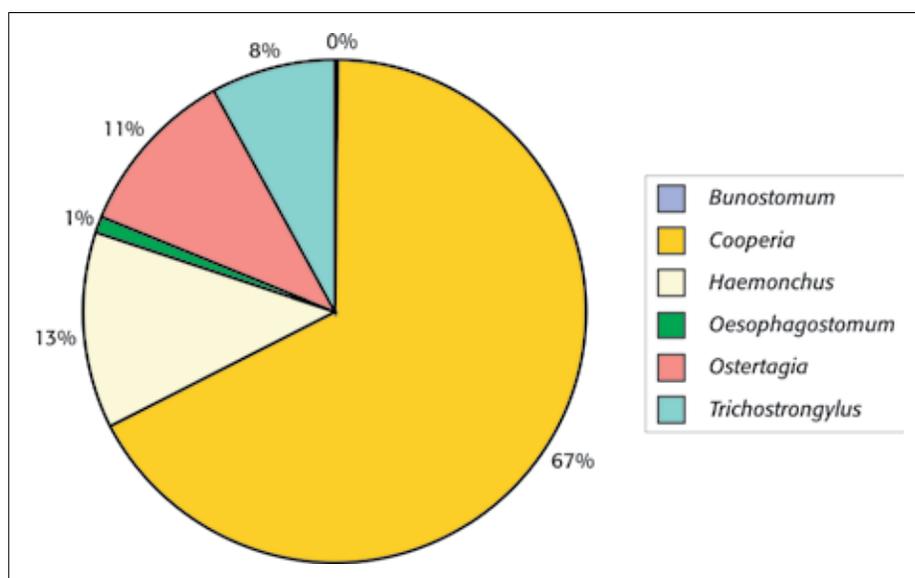


Figura 2. Participación porcentual de nematodos gastrointestinales de bovinos en 36 fincas de la Sabana de Bogotá y Valles de Ubaté y Chiquinquirá.

se llevó a cabo: el predominio de *Cooperia spp.* (Márquez *et al.*, 2000, 2003).

Así, *Cooperia spp.* es el parásito involucrado en el proceso de resistencia en las zonas estudiadas. En seis predios se observó resistencia de *Cooperia spp.* al albendazol y en otras tres, a la ivermectina. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Anziani *et al.* (2003, 2004), quienes informan de la presencia de poblaciones de *Cooperia pectinata* resistentes a benzimidazoles y a avermectinas, lo mismo que *Haemonchus spp.* a benzimidazoles en la zona noreste de la Argentina, y de *Haemonchus spp.* y *Ostertagia spp.* a los benzimidazoles en el sur de la provincia de Córdoba en el mismo país. En Brasil, Paiva *et al.* (1990) encontraron cepas de *Cooperia oncophora* resistentes al oxfendazol y al fenbendazol en terneros de seis a diez meses de edad, con porcentajes de RCH de 69% y 81%, respectivamente. Estos autores reportan en el mismo país resistencia de *H. placei* y *C. punctata* a la ivermectina. En Brasil, recientemente se hallaron cepas de *Haemonchus spp.* y *Cooperia spp.* resistentes a la ivermectina y a un benzimidazol; al mismo tiempo, señalan la presencia de resistencia múltiple al albendazol, al levamisol y la ivermectina (Soutello *et al.*, 2007).

No se detectó resistencia de los nematodos gastrointestinales al levamisol, resultado que está en consonancia con los escasos reportes en la literatura mundial.

En nuestro caso, es posible que debido al poco frecuente uso de este medicamento en los predios (14%), la presión de selección de este compuesto químico es menor en comparación con los antihelmínticos de los otros dos grupos (60% usan benzimidazoles y 26% ivermectina). Esta situación sugiere que el levamisol podría ser la mejor alternativa química disponible en esta región para el control de los nematodos gastrointestinales de los bovinos, toda vez que el endoparásito prevalente en estas regiones es *Cooperia spp.*

En relación con la resistencia a la ivermectina por parte de este nematodo en el sistema de producción de lechería especializada de la región estudiada, es importante advertir sobre el alto riesgo de diseminación de este problema derivado de su uso; en efecto, se sabe de la facilidad con que la ivermectina selecciona poblaciones de nematodos resistentes, dado que el proceso de resistencia es gobernado por una característica completamente dominante, lo cual la hace más sensible para seleccionar nematodos a bajas frecuencias de uso y, por lo tanto, a desarrollar resistencia en corto tiempo (Le Jambre, 1997).

A continuación se postulan algunas razones por las cuales los hallazgos de *Cooperia spp.* resistentes son más frecuentes: a) se trata de una especie denominada 'dosis-limitante', esto es, que requiere de concentraciones máximas de medicamen-

to para ser eliminada, al tiempo que limita la dosis mínima necesaria de lactonas macrocíclicas; b) es probable que las especies 'dosis-limitante' tengan una frecuencia de genes de resistencia mayor y que éstos exhiben características de expresión dominante; c) una mayor capacidad de adaptación de las poblaciones resistentes de *Cooperia spp.*, lo que implica el incremento de la patogenicidad y del potencial biótico; d) es posible que ocurran ciertos cambios en la biodiversidad y/o densidad de los nematodos parásitos de bovinos en pastoreo que potencien su patogenicidad y su potencial biótico, como se ha demostrado en algunas cepas de *Cooperia* resistentes (Coles, 2001)⁵; finalmente, e) es probable que el incremento que ha tenido este endoparásito en la región estudiada contribuya al desarrollo de mayor presión de selección para resistencia, si se consideran los tratamientos intensivos depa- rados a los rebaños allí, que disminuye severamente la población en refugio de este nematodo.

De acuerdo con los criterios empleados para declarar el estatus de resistencia a los antihelmínticos probados, cuatro fincas presentaron —además de resistencia a uno de los medicamentos—, resistencia 'sospechosa' o 'baja' a uno o dos de los otros antihelmínticos; sin embargo, el número de larvas recuperadas en los grupos tratados de esas fincas no fue suficiente para declarar el estatus de resistencia múltiple. Esta situación pone de presente el alto riesgo de que la resistencia haga presencia en estos predios o de que ya esté presente pero que no se pudo detectar mediante la prueba *in vivo* debido a limitaciones de sensibilidad de esta técnica.

Se presentaron situaciones en las que no se desarrollaron larvas L3, que se explican por una nula o escasa viabilidad de los huevos excretados a consecuencia del contacto o exposición de los parásitos a los distintos principios activos empleados en el estudio. Por el contrario, se observó que en algunos coprocultivos de grupos tratados, que mostraron recuentos negativos, se reportaron larvas L3, situación que puede explicarse por la moderada sensibilidad de la técnica de McMaster.

5. No obstante, las afirmaciones mencionadas requieren de confirmación experimental a fin de aumentar el conocimiento sobre el desarrollo de resistencia.

Con relación al control por grupos etáreos, el 97,1% de los ganaderos vermifugan las crías hembras menores de un año; el 71,4% de los productores tratan a las hembras durante el levante y el 94,3% desparasitan a las vacas así: 31,4% durante el primer mes después del parto, 31,4% al secar a la vaca al final de la lactancia y el resto, 37,2% en cualquier época, especialmente cuando observan síntomas de parasitismo.

Con base en los criterios señalados en la sección de metodología, los costos del control endoparasitario oscilan de \$292.772 anuales, en una finca con bajo número de bovinos y mínima aplicación de antiparasitarios, hasta \$11.352.300 anuales en una finca con población ganadera abundante y alta frecuencia en la aplicación de antihelmínticos.

En general, para una finca ganadera modal de medianos y grandes productores de leche con las características de las de la Sabana de Bogotá y los Valles de Ubaté y Chiquinquirá, se estableció un costo anual por concepto de vermifugación de \$ 1.708.162 para una empresa con las siguientes características: estructura media del hato en el sistema de producción lechera especializada con 93 hembras jóvenes, 142 vacas y un toro de repase; el manejo comporta la realización de seis vermifugaciones anuales a las crías menores de un año de edad, dos al levante y una a las vacas en producción.

CONCLUSIONES

- Se realizó el primer estudio de resistencia a los antihelmínticos en poblaciones de nematodos gastrointestinales de bovinos en Colombia mediante la aplicación de una prueba *in vivo*.
- Se detectó la presencia de resistencia a los antihelmínticos en bovinos, particularmente en nueve fincas del sistema de producción de lechería especializada de la Sabana de Bogotá y los valles de Ubaté y Chiquinquirá, basada en la metodología más empleada en el mundo y recomendada por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria: la prueba *in vivo* basado en el RCH.
- El 25% de las fincas presentó resistencia a los antihelmínticos: en 17% se

detectó resistencia al albendazol y en 8% a la ivermectina.

- *Cooperia spp.* es el nematodo gastrointestinal involucrado en este proceso, tanto para el benzimidazol como para la ivermectina.
- Los factores de riesgo que potencian el surgimiento de resistencia a los antihelmínticos en estas fincas fueron: vermifugar a los animales adultos, dosificar los bovinos con base en la estimación y no en el peso real de los animales, y hacer uso de un mismo principio activo durante más de cuatro o cinco años.
- Los resultados de este estudio muestran que la resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos se está extendiendo en el mundo.
- Al comparar los resultados de las fórmulas RCH₁ y RCH₂ se demostró alta correlación entre las dos; sin embargo, hubo mayor prevalencia de resistencia con la fórmula pretratamiento que con la postratamiento.
- Las fórmulas concordaron en la detección de resistencia cuando su nivel en las fincas era bajo, tanto para la ivermectina como para el benzimidazol.
- Según los resultados de la encuesta, los antihelmínticos más usados fueron, en primer lugar, los benzimidazoles, especialmente el albendazol, seguidos por la ivermectina y el levamisol.
- El único método de control de nematodos gastrointestinales de bovinos llevado a cabo en las 36 fincas estudiadas fue el uso de antihelmínticos, sin que se reportara la implementación de prácticas de Control Integrado de Parásitos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al señor Aldemar Zúñiga L., Auxiliar de Investigación del Grupo de Salud Animal de CORPOICA por su apoyo en las actividades de campo y de laboratorio, lo mismo que a todos los ganaderos por su colaboración desinteresada que hizo posible la realización del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Anziani, O. 2003. Resistencia de los nematodos gastrointestinales de los bovinos a los antihelmínticos. En: <http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/tandil.htm>; consulta: noviembre 2007.
- Anziani, O.S., Suárez, V., Guglielmono, A.A., Wranke, O., Grande, H., Coles, G.C. 2004. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone in cattle nematodes in Argentina. *Veterinary Parasitology* 122: 303-306.
- Besier, B. 2006. New anthelmintics for livestock: the time is right. *Trends in Parasitology* 23(1): 20-24.
- Coles, G.; Bauer, C.; Borgsteede, F.; Klei, T.; Taylor, M. y Waller, P. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44: 35-44.
- Coles, G.C. 2002a. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases? *Veterinary Research* 33(5): 481-489.
- Coles, G.C. 2002b. Sustainable use of anthelmintics in grazing animals. *Veterinary Record* 151: 165-169.
- Coles, G.C. 2005. Anthelmintic resistance – looking to the future: a UK perspective. *Research in Veterinary Science* 78(2): 99-108.
- Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A. y Verruyse, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136: 167-185.
- Conder, G. 1998. Field efficacy of doramectin pour-on against naturally-acquired, gastrointestinal nematodes of cattle in North America. *Veterinary Parasitology* 77(4): 259-265.
- FAO. 2004. Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Animal Production and Health Division Agriculture Department. Roma. 216 p.
- Fiel, C., Anziani, O., Suárez, V., Vásquez, R., Eddi, C., Romero, J., Caracostantogolo, J., Saunell, C., Costa, J., Steffan, P. 2001. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. En: http://www.vet-uy.com/articulos/artic_bov/050/0007/bov_007.htm; consulta: enero 2008.
- Floate, K. 2006. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 70: 1-10.
- Gilleard, J.S. 2006. Understanding anthelmintic resistance: the need for genomics and genetics. *Veterinary Parasitology* 36: 1227-1239.
- Jackson, F. 1993. Anthelmintic resistance-The state of play. *British Veterinary Journal*. 149: 123-135.
- Kaplan, R.M. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology* 20(10): 477-481.
- Leathwick, D.M., Pomroy, W.E., Heath, A.C. 2001. Anthelmintic resistance in New Zealand. 49(6): 227-235.
- Le Jambre, L. 1997. Genetics of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. En: 10º Seminario Brasileiro de parasitología veterinaria. Primer seminario de parasitología dos países do mercosul. *Anais. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 6(2): 485 p.
- Lumaret, J.P., Martínez, I. 2005. El impacto de productos veterinarios sobre insectos coprófagos: consecuencias sobre la degradación del estiércol en pastizales. *Acta Zoológica Mexicana* 21(3): 137-148.
- Maingi, N., Bjorn, H., Thamsborg, S.M., Bogh, H.O., nansen, P. 1996. A survey of anthelmintic resistance in nematodos parasites of gotas in Denmark. *Veterinary Parasitology* 66: 53-66.
- Márquez, D.; Jaramillo, F. y Romero, A. 2000. Dinámica del parasitismo gastrointestinal en bovinos del hato de Tibaitatá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia* 47(2): 49-56.
- Márquez, D., Jiménez, G., García, F., Garzón, C. 2003. Diseño y formulación de estrategias de control de ecto y endoparásitos de los sistemas de producción bovina del pequeño productor de trópico bajo, medio y de altura de Cundinamarca y Boyacá. Informe técnico final PRONATTA. En: <http://www.pronatta.gov.co>; consulta: febrero 2008.
- Mejía, M.E.; Fernández, B.M.; Schmidt, E.E.; Cabaret, J. 2003. Multispecies and multiple resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance?. *Veterinary Research* 34(4): 461-467.
- McKellar, Q.A. 1997. Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology* 72(3-4): 413-435.
- Mottier, L.; Lanusse, C. 2002. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. En: <http://www1.inta.gov.ar/producto/helminto/pdf%20resistencia/Motier2.pdf>; consulta: febrero 2008.
- Paiva, F., Sato, M., Jensen, A., Bressan, M. 2002. Resistência a ivermectina em *Haemonchus placei* y *Cooperia punctata* em bovinos. En: <http://cni.inta.gov.ar/helminto/pdf%20Resistencia/actuaresis.htm>; consulta: febrero 2008.
- Pinheiro, A. y Echevarría, F. A. 1990. Susceptibilidad de *Haemonchus spp.* em bovinos ao tratamento anti-helmíntico com albendazole e oxfendazole. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 10(1-2): 19-21.
- Samson-Himmelstjerna, G. 2006. Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 136: 99-107.
- Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. *Veterinary Parasitology* 98: 89-109.
- Silvestre, A., Leignel, V., Berrag, B., Gasnier, N., Humbert, J., Chartier, Ch., Cabaret, J. 2002. Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Veterinary Research* 33: 465-480.
- Sissay, M., Asefa, A., Ugglá, A., Waller, P.J. 2006. Anthelmintic resistance on nematode parasites of small ruminants in eastern Ethiopia: Exploitation of refugia to restore anthelmintic efficacy. *Veterinary Parasitology* 135: 337-346.
- Soutello, R.G.V., Seno, M.C.Z., Amarante, A.F.T. 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 148: 360-364.
- Suárez, V.H., Cristel, S.L. 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Veterinary Parasitology* 144: 111-117.
- Taylor, M.; Hunt, K.; Goodyear, K. 2002. Anthelmintic resistance detection methods. *Veterinary Parasitology* 103: 183-194.
- Torres, J., Aguilar, A., Bigot, C., Hoste, H. Canal, H., Santos, R., Gutiérrez, I. 2005. Comparing different formulae to test for gastrointestinal nematode resistance to benzimidazoles in smallholder farms in Mexico. *Veterinary Parasitology* 134: 241-248.
- Van Wyk, J.A. 2001. Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance.. *Onderspoort. Journal Veterinary Research* 68: 55-67.
- Van Wyk, J.; Bath, G. 2002. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research* 33(5): 509-529.
- Vercruyse, J., Dorny, P. 1999. Integrated control of nematode infections in cattle: A reality? A need? A future?. *International Journal for Parasitology* 29: 165-175.
- Waller, P.J. 1993. Towards sustainable nematode parasite control of livestock. *Veterinary Parasitology* 48: 295-309.
- Waller, P.J. 1995. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from Australian experience. *The Veterinary Record* 22: 411-413.
- Waller, P.J. 1997. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 72: 391- 412.
- Waller, P.J. 1999. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology* 29: 155-164.