

Capítulo 2

Resistencia a antihelmínticos en Magallanes: primera aproximación al estudio regional de resistencia a antiparasitarios

Camila Sandoval

Médico Veterinario, Ph.D.

Francisco Sales

Médico Veterinario, Ph.D.

Como se ha mencionado previamente, la resistencia a antihelmínticos es un problema que se ha ido incrementando a nivel mundial, pero a pesar de ello, a nivel nacional no se ha generado una gran cantidad de información al respecto. Lo mismo ocurre con la región de Magallanes, donde si bien los casos de endoparasitismos ovinos suelen ser menos severos, de todos modos, se perciben por los productores como un factor de pérdidas y gran parte de ellos aplica antiparasitarios como medida preventiva, pero sin un plan integral de manejos.

Dado lo anterior, y en suma a los potenciales efectos del cambio climático proyectados en Magallanes (aumento de temperaturas promedio y aumento de precipitaciones en ciertas épocas del año), es que la región podría enfrentar, por un lado, el desarrollo de resistencia hacia antiparasitarios, y por otro lado, un eventual aumento de endoparasitismos al generarse condiciones potencialmente más favorables para la sobrevivencia de huevos parasitarios en el ambiente.

Para dar respuesta a lo anterior y levantar información local respecto a la presentación de resistencia a antiparasitarios es que se desarrolló el primer objetivo de este estudio ("Evaluar la presencia de resistencia a antiparasitarios en sistemas ovinos de las diferentes zonas agroclimáticas de Magallanes, para optimizar la efectividad de manejos sanitarios animales") con la colaboración de seis productores cuyas

estancias se ubican en las diferentes zonas agroclimáticas de Magallanes, con el fin de aproximarse a resultados que sean representativos para la región.

A continuación, se describen las metodologías aplicadas y los principales resultados obtenidos.

1. Metodología

1.1. Ubicación

Las evaluaciones se realizaron en seis estancias particulares ubicadas en las diferentes áreas de la provincia biótica de la estepa patagónica, en la Región de Magallanes (Pisano, 1977), con dos estancias localizadas en la zona húmeda, dos estancias ubicadas en la zona intermedia y dos estancias ubicadas en la zona seca. Lo anterior se determinó así para obtener resultados de una mayor representatividad a nivel regional. La Figura 1 muestra la ubicación aproximada de las estancias mencionadas.

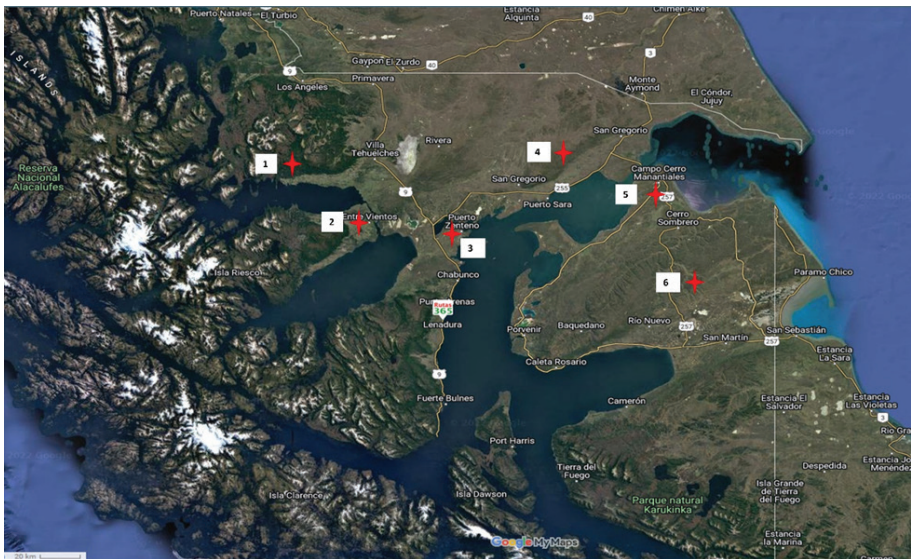


Figura 1. Ubicación de las estancias participantes del estudio (estancias 1 y 2 ubicadas en zona húmeda, estancias 3 y 4 ubicadas en zona intermedia y estancias 5 y 6 ubicadas en zona seca).

1.2. Animales y grupos experimentales

Se utilizaron 50 borregas Corriedale por estancia, de alrededor de 6 meses de edad (nacimiento en octubre de 2021), y sin manejos antiparasitarios previo al estudio. Se controló el peso corporal a los 6, 7 y 8 meses de edad. Se establecieron cuatro grupos experimentales, control (CTRL, 10 animales) que no recibieron tratamiento antiparasitario, y tres grupos que fueron tratados con las clases de antiparasitarios más comúnmente utilizados en la región, más un fármaco que no había sido utilizado antes por ninguna de las estancias participantes del estudio. La siguiente tabla presenta los tratamientos aplicados:

Principio activo	Clave	Nombre comercial	Número de animales tratados
Doramectina	DORA	Dectomax®	10
Eprinomectina	EPRI	Eprinex®	10
Fenbendazol	FENB	Lombrimic®	10
Albendazol	ALB+Clos	Microtel®	10

El número de animales por grupo se definió de acuerdo a recomendaciones oficiales para evaluación de resistencia antiparasitaria (FAO, 2004).

1.3. Toma de muestras

En el día 0 se tomaron muestras de fecas desde el recto en 12 animales por grupo, inmediatamente antes de dosificar con el tratamiento respectivo. Para asegurar el poder terminar el estudio con al menos 10 animales por grupo, se consideraron 2 animales adicionales por grupo inicialmente. El muestreo de fecas se repitió 14 días post-tratamiento. Cada muestra fue identificada individualmente y mantenida en frío (cooler) hasta su entrega al laboratorio, donde fueron preservadas a 4 °C hasta su procesamiento.

1.4. Análisis de laboratorio

Las muestras colectadas fueron analizadas mediante examen coprológico utilizando la técnica de McMaster. Esta prueba permite obtener el recuento de huevos totales por gramo de feca (HPG).

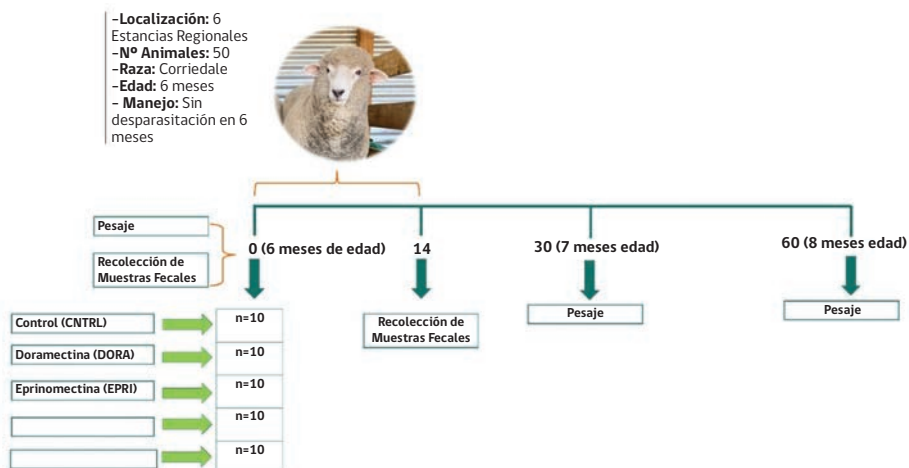


Figura 2. Descripción gráfica de metodología aplicada.

1.5. Análisis Estadístico

Para establecer la presentación de resistencia parasitaria para cada fármaco considerando en forma conjunta cada estancia, se calculó el porcentaje de reducción de huevos (FECR) contrastado los recuentos pre y post tratamiento, y se calculó su respectivo intervalo de confianza (IC) al 95 %. En base a esos resultados se consideró 3 categorías, **1. Resistencia demostrada** para FECR < 95 % con límite inferior (LI) del IC < 90 %, **2. Riesgo de Resistencia** para FECR > 95 % y LI del IC < 90 %, y **3. Sin Resistencia** para FECR > 95 % y LI del IC > 90 % (Holsback et al., 2016). Por otro lado, para establecer la presentación de resistencia parasitaria en forma individual para cada estancia asociada, se aplicó una fórmula que contrasta los recuentos pre y post tratamiento para cada fármaco aplicado para calcular la eficacia antihelmíntica y se consideró sin resistencia para eficacias mayores a 95 %, y con riesgo de resistencia para eficacias menores a 95 % (ver detalles en sección “Resultados”).

2. Resultados

2.1. Establecimiento de grupos experimentales

Durante la primera visita de trabajos de campo se conformaron los grupos experimentales en cada estancia. Los animales se asignaron a cada tratamiento de forma tal que no hubiese diferencias en el peso vivo promedio entre los diferentes grupos experimentales, a fin de evitar factores iniciales que pudiesen alterar los resultados del estudio. Lo anterior se presenta en la Figura 3, donde se aprecia claramente que no existía diferencia en el peso inicial de los animales en cada grupo.



Figura 3. Pesos promedio inicial por grupo de tratamiento en cada estancia (Dora=Doramectina, Epri=Eprinomectina, Fenb= Fenbendazol, Alb+Clos=Albendazol+Closantel).

2.2. Evolución de Pesos Promedio por Grupo Experimental

Como una forma de aproximar los potenciales impactos productivos de aplicar o no un tratamiento antiparasitario, se controló el peso de los animales a los 6 meses de edad (pre-tratamiento), y a los 7 y 8 meses de edad (post-tratamiento). La Figura 4 muestra la evolución de pesos en cada estancia, para los diferentes tratamientos aplicados.

Como se puede visualizar, en general, para todas las estancias si bien hubo variaciones de peso vivo, este no fue significativo en el tiempo y tampoco varió por tratamiento, sino que se explica por otros factores como la disponibilidad de forraje en los potreros, entre otros. Esto implica que aplicar o no antiparasitario no tuvo un impacto en el peso de los animales, al menos en el horizonte de evaluación considerado en este estudio. Es importante tener en cuenta que en general los casos extremos de endoparasitismos sí se asocian con pérdidas de peso (Mavrot et al., 2015), y otras sintomatologías como, por ejemplo, cuadros diarreicos (Jacobson et al., 2020). Sin embargo, los resultados de recuentos de huevos parasitarios iniciales obtenidos mediante la técnica de McMaster se encuentran, en todas las estancias, muy por debajo de los 750 a 1000 huevos por gramo de feca, valor que se ha establecido como el límite a partir del cual los niveles de endoparasitismo empezarían a tener impactos productivos (Barriga, 2002). Ello podría explicar, al menos en parte, el por qué no se observó un efecto sobre el peso vivo de los animales.

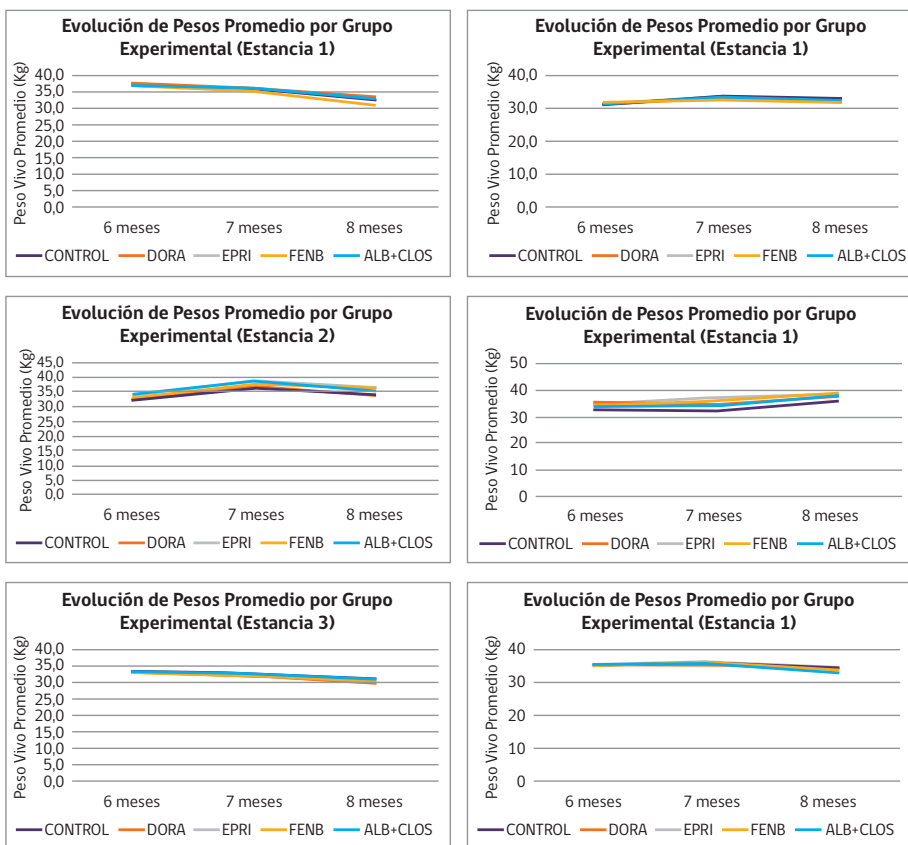


Figura 4. Evolución de pesos promedio por grupo experimental en cada estancia (Dora=Doramectina, Epri=Eprinomectina, Fenb= Fenbendazol, Alb+Clos=Albendazol+Closantel).

2.3. Recuentos Parasitarios Iniciales por Estancia

En la Figura 5 se indican los recuentos totales iniciales de Nematodirus y HTS para cada estancia. Los valores indicados reflejan el estado basal de los animales, previo a la aplicación de tratamientos antiparasitarios, ya sea en el marco de este estudio o previamente desde su nacimiento, pues como se mencionó, se trabajó con corderas nunca antes desparasitadas.

Es interesante destacar que los recuentos obtenidos se consideran como muy bajos, dado que se define en la literatura que, para nemátodos totales (Nematodirus + HTS),

recuentos de huevos por gramo de feca cercanos a 750 a 1000 serían necesarios para considerar una infestación moderada en el caso del ovino, lo que es variable según especie parasitaria (Barriga, 2002). Al analizar los datos de la Figura 5, se aprecia que sólo dos estancias (1 y 6) bordean y/o sobrepasan los 200 huevos por gramo de feca, bordeando el límite mínimo requerido para realizar estudios de resistencia a antihelmínticos, que es de 150 huevos por gramo de feca (Coles et al., 2006) Respecto a ello es importante indicar que, por un lado, estos resultados confirman que, en general, en Magallanes los niveles de parasitismo son menores a los alcanzados en otros sectores del país o en otros ambientes más tropicales que son muy propicios para el desarrollo de endoparasitismos, los que incluso alcanzan niveles letales. Lo anterior se vincula, entre otras cosas, a la barrera ambiental natural que se genera en la región dados los inviernos prolongados, con bajas temperaturas y escarchas, además de fuertes vientos.

Por otro lado, sin embargo, también es importante recalcar que estos resultados son una fotografía de un momento específico, y que podrían diferir al ser evaluados en otra época del año, en otra categoría animal, en animales bajo un manejo diferente, entre otros factores. De todos modos, cabe destacar que el nivel de severidad de cada caso no sólo depende de los recuentos, sino también del estado general del animal y la presencia o no de sintomatología clínica asociada.

2.4. Evaluación de Resistencia Parasitaria Individual y Global

Para la evaluación de la existencia de resistencia parasitaria específica para esta estancia, se calculó el porcentaje de eficacia antihelmíntica utilizando la siguiente fórmula:

Porcentaje Eficacia Antihelmíntica:

$$\frac{\text{Recuentos Pre-tratamiento} - \text{Recuentos Post-tratamiento}}{\text{Recuentos Pre-tratamiento}} \times 100$$

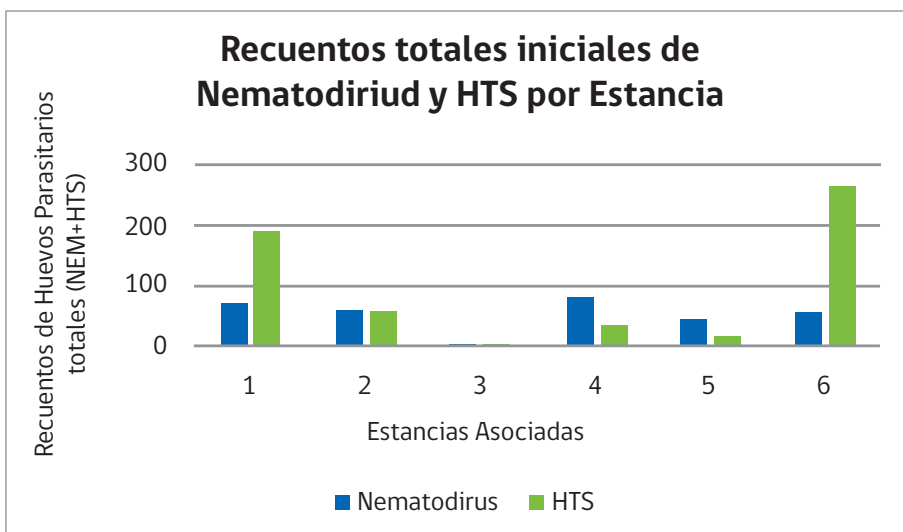


Figura 5. Recuentos de huevos parasitarios iniciales (Nematodirus y HTS) por estancia (1 al 6 indican las diferentes estancias del estudio).

En base a ello, se determinó, para cada estancia, que si el porcentaje de eficacia es menor al 95 % para un determinado fármaco, entonces existe riesgo de resistencia, y, por lo tanto, la recomendación ideal sería a rotar ese determinado principio activo, para evitar el desarrollo de una población de parásitos resistentes.

En las Figuras 6a y 6b se muestran los resultados de eficacia antihelmíntica para cada estancia. En las estancias 3 y 6 se encontró un 100 % de eficacia para todos los antiparasitarios evaluados. Mientras que en las estancias 2, 4 y 5 se encontró eficacias menores a 95 % para Doramectina y/o Eprinomectina sobre recuentos de Nematodirus, HTS o ambos. Es importante destacar que ambos fármacos pertenecen al grupo de antiparasitarios llamados lactonas macrocíclicas, las que han causado múltiples casos de resistencia a nivel mundial (Wolstenholme y Ray, 2012). Finalmente se puede apreciar que la estancia 1 es la única que muestra una eficacia menor a 95 % para el tratamiento de albendazol+closantel, pero específicamente para nematodirus, ya que para HTS se encuentra por sobre 95 %.

Estos resultados indican la relevancia de realizar estudios que abarquen más de un sistema productivo, ya que el escenario puede variar entre uno y otro. Por ejemplo, si por azar en este estudio se hubiese trabajado sólo con las estancias 3 y 6, se

habría encontrado 100 % de eficacia para todos los fármacos evaluados, y si en base a ello se hubiese realizado una extrapolación regional, se habría caído en un error y recomendaciones técnicas imprecisas.

Por ello es fundamental incluir el mayor número de sistemas que sea posible cuando se está en la búsqueda de resultados que puedan ser un indicador a considerar a nivel regional.

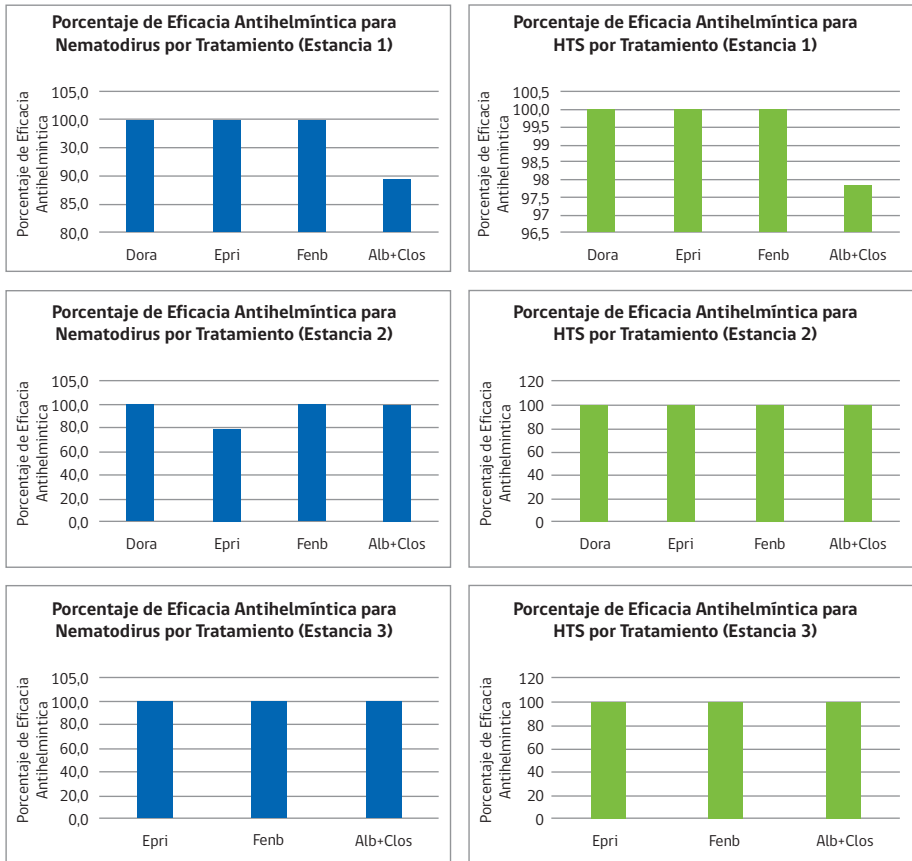


Figura 6a. Eficacia antihelmíntica de cada antiparasitario administrado para Nematodirus y HTS, en estancias 1, 2 y 3. Porcentajes menores a 95 % son indicadores iniciales de resistencia hacia un determinado fármaco.

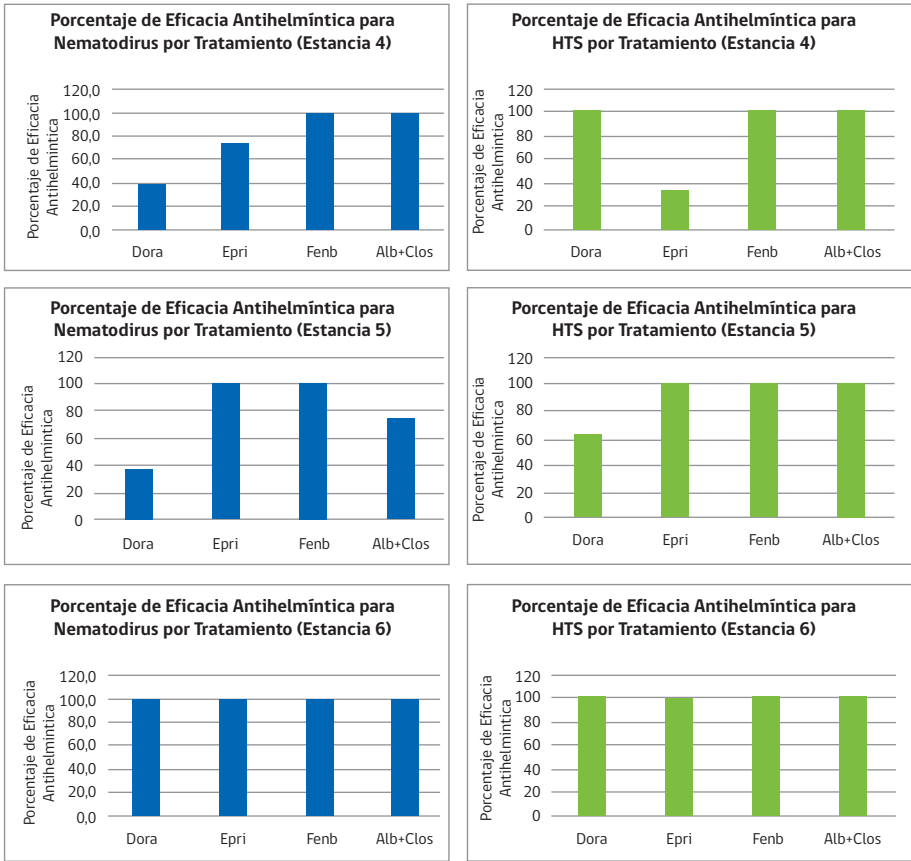
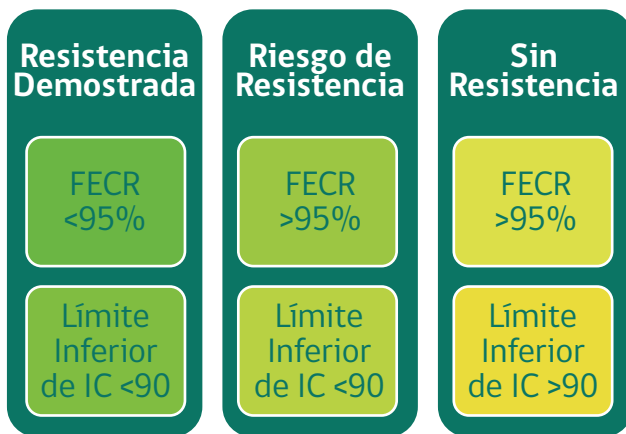


Figura 6b. Eficacia antihelmíntica de cada antiparasitario administrado para Nematodirus y HTS, en estancias 3, 4 y 5. Porcentajes menores a 95 % son indicadores iniciales de resistencia hacia un determinado fármaco.

Por lo anterior, en este estudio se trabajó con seis estancias regionales ubicadas en las diferentes zonas agroclimáticas de la región, con el objetivo de obtener resultados que pudiesen representar una aproximación inicial a datos de alcance regional. A pesar de que seis estancias es aún un número pequeño, al estandarizar algunas variables como raza, edad de los animales evaluados y tratamientos previos de los mismos (nunca antes desparasitados) se logró reducir algunos factores de variación que podrían afectar los resultados del estudio.

A continuación, se muestran los resultados de resistencia a antiparasitarios considerando el análisis conjunto de los datos de todas las estancias evaluadas, lo que se realizó para obtener una visión transversal del estado de resistencia a antiparasitarios.

Para ello, y de acuerdo a los criterios indicados por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (Coles et al., 1992), se calculó dos valores estadísticos en base a los recuentos de huevos parasitarios por gramo de feca. Uno de ellos es el porcentaje de reducción de recuentos de huevos en fecas (FECR) y el otro corresponde al límite inferior de un intervalo de confianza calculado al 95 %. En base a ello, se definieron las siguientes categorías de riesgo de resistencia:



A continuación, se define cada una de las categorías:

Resistencia Demostrada: indica que se encontró evidencia concluyente para determinar que existe resistencia hacia el antiparasitario evaluado.

Riesgo de Resistencia: indica que se encontró evidencia de resistencia “en desarrollo” hacia el antiparasitario evaluado.

Sin Resistencia: indica que no se presenta resistencia hacia el antiparasitario evaluado.

De acuerdo a lo anterior, se encontraron los siguientes resultados:

Antiparasitario evaluado	Clasificación
Doramectina	<p>Riesgo de Resistencia</p> <p>FECR (HTS)=1</p> <p>LIMITE INFERIOR I.C. (HTS)=0,87</p> <p>FECR (NEM)= 0,96</p> <p>LÍMITE INFERIOR I.C. (NEM)= 0,65</p>
Eprinomectina	<p>Riesgo de Resistencia</p> <p>FECR (HTS)= 1</p> <p>LÍMITE INFERIOR I.C. (HTS)=0,9</p> <p>FECR (NEM)=0,97</p> <p>LIMITE INFERIOR I.C. (NEM)=0,65</p>
Fenbendazol	<p>Sin Resistencia</p> <p>FECR (HTS)=1</p> <p>LÍMITE INFERIOR I.C. (HTS)=0,99</p> <p>FECR (NEM)=1</p> <p>LIMITE INFERIOR I.C. (NEM)=0,99</p>
Albendazol+Closantel	<p>Sin Resistencia (para HTS) pero en Riesgo de Resistencia para Nematodirus</p> <p>FECR (HTS)=0,99</p> <p>LÍMITE INFERIOR I.C. (HTS)=0,96</p> <p>FECR (NEM)=0,97</p> <p>LÍMITE INFERIOR I.C. (NEM)= 0,81</p>

3. Comentarios finales

Los resultados previamente documentados son una primera aproximación al estudio de resistencia a antiparasitarios a nivel regional en Magallanes. En general, los datos indican la presencia de riesgo de resistencia hacia Doramectina y Eprinomectina, los que concuerdan con estudios basales realizados previamente en INIA Kampenaike (Sandoval y Sales, 2020), donde también se encontró evidencia de resistencia en desarrollo hacia antiparasitarios del grupo de lactonas macrocíclicas, al que pertenecen Doramectina y Eprinomectina. También es importante indicar que, a nivel mundial, este es uno de los grupos de antiparasitarios que mayor resistencia han generado en rebaños ovinos y bovinos (Wolstenholme y Ray, 2012).

Por lo anterior, es importante considerar que, para Magallanes, lo ideal sería limitar dentro de lo posible el uso de este grupo de antiparasitarios en los casos en que existan otras alternativas farmacológicas eficientes. De este modo se podrá evitar que se continúe desarrollando resistencia hacia las lactonas macrocíclicas, y éstas podrían utilizarse como alternativas futuras, en un plan direccionado de rotación anual de principios activos.

Sin embargo, es muy importante considerar que estas recomendaciones generales siempre deben ir acompañadas de una evaluación específica para cada sistema productivo, ya que existen condiciones de manejo específicas que pueden afectar la presentación de resistencia, pues, tal como se ha demostrado en este mismo estudio, existen algunas de las estancias evaluadas en las que inclusive se registró un 100 % de eficacia de lactonas macrocíclicas. Por lo tanto, lo ideal es generar planes de manejo integrados específicos por estancia, y acompañarlo de diversas medidas de manejo preventivo que permitan reducir el uso de fármacos antiparasitarios para así evitar el desarrollo de resistencia.

Referencias

- Barriga O. 2002. Diagnóstico de Laboratorio de Parasitología. En: Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Ed Germinal, Las Condes, Santiago, Chile. Pp. 226-228.
- Coles, G., Bauer, C., Borgsteede, F., Geerts, S Klei, T., Taylor, M., 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.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2004. Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Animal Production and Health Division, FAO, Rome, Italy.
- Holsback, L., Ramsey, P., Sanches, C., Kremer, G., Conde, G., Gabriel, H., Balestrieri, J., Tomazella, L. 2016. Anthelmintic efficiency of doramectin, fenbendazole, and nitroxinil, in combination or individually, in sheep worm control. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 25(3): 353-359. Doi: 10.1590/S1984-29612016025.
- Jacobson, C., Larsen, J., Besier, R., Lloyd, J., Kahn, L. 2020. Diarrhoea associated with gastrointestinal parasites in grazing sheep. *Veterinary Parasitology*, 282: 109-139. Doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109139.
- Mavrot, FF., Hertzberg, H., Torgerson, P. 2015. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, 8:1-11. Doi: 10.1186/s13071-015-1164-z
- Pisano, E. 1977. Fitogeografía de Fuego-Patagonia Chilena. I. Comunidades vegetales entre las latitudes 52° S y 56° S. *Anales del Instituto de la Patagonia, Punta Arenas Chile*, 8:121-250.
- Wolstenholme, A., Ray, K. 2012. Resistance to Macrocylic Lactones. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6): 873-887. Doi: <https://doi.org/10.2174/138920112800399239>