

Resistencia al Triclabendazole (TCBZ) en ovinos infectados artificialmente con una cepa cajamarquina de *Fasciola hepatica*

Pedro Ortiz,⁹ Corpus Cerna, María Cabrera, Carlos Rosales,¹⁰ César Fiel,¹¹
Maricel Guzmán, Silvana Scarcela, Pamela Lamenza y Hugo Solana

Introducción

En la región Cajamarca (Perú) se viene utilizando por más de quince años el TCBZ como el medio más común para el control de fasciolosis en ganado vacuno lechero (Claxton *et al.*, 1998). Sin embargo, se ha encontrado evidencia de resistencia de *Fasciola hepatica* a este fármaco (Márquez, 2003; Kelly, 2007).

La alta eficacia del TCBZ mostrada al comienzo de su uso ha ido disminuyendo dramáticamente en los últimos años, fenómeno que ha sido identificado como una resistencia del parásito a la droga. Se considera que hay resistencia cuando la efectividad de un fármaco disminuye o desaparece. El uso de antiparasitarios sin ningún control de bioequivalencia y sin criterios técnicos de manejo (Ortiz *et al.*, 2011) han hecho que el fenómeno de resistencia se incremente.

La resistencia puede ser explicada dado que después de cada tratamiento antiparasitario, un número pequeño de individuos resistentes al fármaco utilizado, sobrevive. La continua selección de cepas resistentes, favorecida por el uso reiterado del mismo antiparasitario, aumenta la frecuencia de genes resistentes, hasta lograr reemplazar la población sensible por una población resistente al fármaco con la consiguiente pérdida de su efectividad (Romero *et al.*, 1998).

Los primeros reportes de resistencia de la *F. hepatica* a los fasciolicidas tanto en el campo como en el laboratorio han sido consignados a partir de los años 80 (Boray y De Bono, 1989). Estos reportes provienen de Australia (Overend y Bowen, 1995), Irlanda (Lane, 1998; O'Brien, 1998), Escocia (Michel *et al.*, 1988) y Holanda (Moll *et al.*, 2000).

Casi todos los estudios reportados hasta hoy tienen la particularidad de haberse realizado en bovinos u ovinos con infección natural, lo cual no ha permitido confirmar el fenómeno de resistencia en condiciones rigurosamente controladas y utilizando cepas resistentes aisladas de regiones endémicas y con alta prevalencia de fasciolosis (Gonzales, 2011; Ortiz, 2000).

9 Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca-Perú.

10 Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca-Perú.

11 Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires-Argentina.

El objetivo del presente estudio fue confirmar la resistencia al TCBZ en ovinos infectados artificialmente con esta cepa resistente, mediante el test de reducción del número de huevos en heces (Coles *et al.*, 1992), el cual es un indicador indirecto de la aparición de resistencia a los fasciolicidas. Los análisis coprológicos se realizaron a través de la técnica de sedimentación rápida (Lumbreras *et al.*, 1962).

Materiales y métodos

Del aislamiento de la cepa resistente

La cepa fue aislada a partir de un animal resistente al TCBZ. El proceso consistió en obtener miracidios a partir de huevos de *Fhepatica* colectados del animal resistente. Con estos miracidios se infectaron caracoles criados artificialmente en el laboratorio de inmunología de la FCV-UNC. Seis a ocho semanas posteriores a la infección de los caracoles se colectaron las metacercarias, las mismas que se conservaron en agua destilada a 4° C hasta ser usadas para infectar a los ovinos.

De los ovinos Corriedale seleccionados

Se utilizaron once ovinos Corriedale de ocho meses de edad y de peso equivalente, provenientes de una zona libre de *Fhepatica* y sin tratamiento antihelmíntico en los noventa días previos. Los animales se encontraban pastoreando sobre una pradera compuesta por una asociación de *rye grass*, trébol blanco y festuca.

Del diseño experimental

Los ovinos seleccionados fueron asignados aleatoriamente a uno de dos grupos conformados de la siguiente manera.

Tabla 1
Selección de ovinos

Grupo	N	Infección artificial (28-06*11)	Tratamiento con TCBZ (12-10-11)	Sacrificio (26-10-11)
I: Control sin tratamiento	5	X	-----	X
II: TRATAMIENTO CON TCBZ	6	X	X	X

De la infección y tratamiento de los animales

Treinta días previos a la infección experimental se seleccionaron los animales y se tomaron muestras para el análisis coproparasitológico, confirmando la ausencia de huevos de *Fhepatica* y bajos conteos de nemátodos gastrintestinales (menos de 200 h.p.g.).

El día 0 (inicio del experimento) los animales fueron pesados, se asignaron a los grupos diseñados y se infectaron con las metacercarias. Cada animal recibió un inoculo de 200 metacercarias de *Fhepatica*.

A los 106 días de la infección artificial, los animales del Grupo II fueron dosificados con TCBZ al 10% (Fasinex, Serie: P734151, fecha de elaboración: 08/2011, vencimiento: 08/2016) en dosis de 10 mg/kg p.v. por vía oral, en tanto que los del grupo I actuaron como control sin tratamiento.

Ese mismo día (106) se extrajo materia fecal para realizar el conteo de huevos, el mismo que se repitió a los 14 días post tratamiento (120 días). Los análisis coproparasitológicos se realizaron mediante la técnica de sedimentación rápida, expresando los resultados en número de huevos por cada 3 gramos de materia fecal (Lumbreras, 1962).

De la necropsia de los animales

A los 14 días de aplicado el tratamiento con TCBZ todos los animales fueron sacrificados siguiendo los lineamientos descritos por la WAAVP (1995) para la evaluación de antihelmínticos en rumiantes.

Se extrajeron el hígado y la vesícula biliar y luego se realizaron cortes de 1 cm de espesor del hígado y se examinaron los conductos biliares para la recuperación del número total de fasciolas.

Posteriormente se colocaron los hígados en recipientes individuales con agua tibia durante 12 horas, para recuperar los tremátodes remanentes mediante el uso de un tamiz.

De la determinación de la eficacia

El porcentaje de eficacia se calculó utilizando la media geométrica del número de tremátodes de cada grupo experimental, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia (\%)} = [(\text{control} - \text{tratados}) / \text{control}] \times 100$$

Del análisis estadístico

Los valores del conteo de huevos son expresados como la media +/- la desviación estándar y los de la eficacia en porcentaje. Para establecer la diferencia de medias se utilizó la prueba "t" de Student y para la diferencia de porcentajes la prueba de Ji cuadrado.

Tabla 2
Prueba de eficacia del TCBZ (TCBZ al 10%)

Grupo Control		Grupo TCBZ 10 mg/kg 14 days post- tratamiento	
Animal	Nº de F. Heparica adultas	Animal	Nº de F. Heparica adultas
1	48	1	33
2	22	2	18
3	5	3	10
4	8	4	2
5	6	5	5
		6	9
TOTAL	89	TOTAL	77
Mean	17,8	Mean	12,83
Media geométrica	12,0	Media geométrica	9,0
Eficacia			25,2%

Resultados y discusión

Los análisis coproparasitológicos realizados en ambos grupos resultaron positivos a *Fhepatica* considerándose satisfactoria la infección experimental. Como se puede apreciar en la tabla 2, la reducción en el conteo de huevos fue nula, coincidiendo con los antecedentes de esta cepa de *Fhepatica* y con los resultados obtenidos en la prueba de eficacia controlada.

La reducción de la carga parasitaria resultó sustancialmente más baja que la obtenida en pruebas originales sobre *Fhepatica* sensible al TCBZ (Wolff *et al.*, 1983; Turner *et al.*, 1984) confirmando la resistencia de la *Fhepatica* a este fasciolicida.

La falta de eficacia encontrada en el presente estudio es un claro indicativo del desarrollo de resistencia de la *Fhepatica* frente al TCBZ en Cajamarca.

A partir de estos resultados se puede concluir que la eficacia absoluta de TCBZ estimada en los ovinos fue de 25.2%, la cual es considerada muy baja. No hubo reducción en el conteo del número de huevos de *Fhepatica* en heces, lo cual indica una eficacia nula del TCBZ.

Referencias

- Boray, J. C., Crowfoot, B. D., Strong, M. B., Alleson, J. R., Schellenbaum, M., Bon Orelli, M., Sarasing, G.
1983 "Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with Triclabendazole". *Vet. Rec.* 113: 315-317.

- Boray, J. C. y De Bono, D.
1989 "Drug resistance in *Fasciola hepatica*". En: *Advances in Veterinary Science*. Outteridge, P.M., Richards, R.D. (eds). Australia, Artarmon, p. 166.
- Boray, J. C. y Rolfe P.F.
1990 "Chemoprophylaxis of *Fasciola hepatica* in sheep". *Bull. Soc. Franc. Parasitol.* N° 8. Vol. 1, Abstract VIIth ICOPA, Paris, 461.
- Claxton, J. R., Zambrano, H., Ortiz, P., Delgado, E., Escurra, E., Clarkson, M. J.
1998 "Strategic control of fasciolosis in the inter-Andean valley of Cajamarca, Perú". *Vet. Rec.* 143: 42-45.
- Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F.H., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J.
1992 "World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance". *Vet. Parasitol.* 44: 35-44.
- Kelly, R.
2007 "Detection of Triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica* (Alicuya) infected cattle in the Northern Andean Region of Cajamarca, Perú". *Tesis de maestría de la Universidad de Liverpool*.
- Lane, G.
1998 "Anthelmintic resistance". *Veterinary Record.* 143: 232.
- Lumbreras, H., Cantella, R., Burga, R.
1962 "Acerca de un procedimiento de sedimentación rápida para investigar huevos de *Fasciola hepatica* en heces, su evaluación y uso en el campo". *Revista Médica Peruana.* 31: 167-174.
- Márquez, D.
2003 "Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control". *Corpoica.* 1: 55-71.
- Mitchell, G. B., Maris, L., Bonniwell, M. A.
1998 "Triclabendazole-resistant liver fluke in Scottish sheep". *Vet. Record.* 143: 399.
- Moll, L., Gaasenbeek, C. P., Vellema, P., Borgsteede, F.H.
2000 "Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle and sheep in the Netherlands". *Vet. Parasitol.* 91: 153-158.
- Ortiz, O., Castope, N., Cabrera, M., Fariás, C., Álvarez, L., Suárez, G., Lanusse, C.
2011 "Comparative systemic availability of Triclabendazole after administration of different and formulations in dairy cattle". XXIII World Association for the advancement of Veterinary Parasitology. Buenos Aires, Argentina.
- Overend, D. J. y Bowen, F.L.
1995 "Resistance of *Fasciola hepatica* to Triclabendazole". *Aust Vet J.* 72: 275-276.