

M.^a JESÚS ALCALDE ALDEA; CEFERINA VIEIRA ALLER
JUAN JOSÉ GARCÍA GARCÍA; VALENTÍN PÉREZ PÉREZ
RAÚL BODAS RODRÍGUEZ; JESSE BARANDIKA
(Coordinadores)

**XLII CONGRESO NACIONAL
Y
XVIII INTERNACIONAL
DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA (SEOC)**



XLII CONGRESO NACIONAL
Y
XVIII INTERNACIONAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA
(SEOC)

AQUILAFUENTE, 231

©
Ediciones Universidad de Salamanca
y los autores

La edición de este libro de actas ha contado con la inestimable colaboración
del Colegio Oficial de Veterinarios de Salamanca

1ª edición: septiembre, 2017
ISBN: 978-84-9012-793-3
Depósito legal: S. 327-2017

Ediciones Universidad de Salamanca
Plaza San Benito s/n
E-37002 Salamanca (España)
<http://www.eusal.es>
eus@usal.es

Maquetación:
Cícero, S.L.
Tel.: 923 123 226
37007 Salamanca (España)

*Todos los derechos reservados.
Ni la totalidad ni parte de este libro
puede reproducirse ni transmitirse sin permiso escrito de
Ediciones Universidad de Salamanca.*

Ediciones Universidad de Salamanca es miembro de la UNE
Unión de Editoriales Universitarias Españolas
www.une.es



CEP. Servicio de Bibliotecas

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA (España).
Congreso nacional (42o. 2017. Salamanca, España)

XLII Congreso nacional y XVIII internacional
de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC) : 20 al 22 de septiembre
de 2017 / Ma. Jesús Alcalde Aldea [y otros] (coordinadores).
—1a. ed.—Salamanca : Ediciones Universidad de Salamanca, 2017

1 memoria USB (564 p.). —(Aquilafuente ; 231)

Título tomado de la página de inicio

Sistema requerido: Adobe Acrobat

Bibliografía y sumario en inglés al final de cada capítulo

1. Ganado ovino-Cría y explotación-Congresos. 2. Cabras-Cría y explotación-Congresos.
I. Alcalde Aldea, María Jesús, editor. II. Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (España). Congreso
internacional (18o. 2017. Salamanca, España)

636.3(063)

INCIDENCIA DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS BENZIMIDAZOLES EN EL GANADO OVINO

MARTÍNEZ-VALLADARES, M.^{a1,2}; MARTÍN RAMOS, E.³;
ESTEBAN-BALLESTEROS, M.^{1,2}; GONZÁLEZ-LANZA, M.^a DEL CAMINO¹
Y ROJO-VÁZQUEZ, F. A.^{1,2}

¹ Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), 24346 Grulleros, León, España.

² Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.
Campus de Vegazana, 24071 León, España.

³ Sociedad Cooperativa Limitada Bajo Duero (COBADU),
49150 Moraleja del Vino, Zamora, España.
mmarva@unileon.es

RESUMEN

Una gran proporción del ganado ovino en España se explota en régimen extensivo o semi-extensivo, por lo que prácticamente el 100% de los rebaños en pastoreo están infectados por nematodos gastrointestinales (NGI). El adecuado control de estas infecciones mediante fármacos es necesario para evitar pérdidas de la producción y mejorar la salud animal, sin embargo, el uso abusivo y/o incorrecto de los mismos ha dado lugar a la aparición de resistencias antihelmínticas. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de las infecciones por NGI en rebaños de ganado ovino, así como estudiar la presencia de resistencias antihelmínticas a fármacos benzimidazoles utilizando para ello técnicas *in vivo* (ensayo de reducción de huevos en heces o FECRT) e *in vitro* (ensayo de eclosión de huevos o EHA). En el presente estudio se encontró que la prevalencia de la infección en los rebaños fue del 98%, de los cuales el 85% presentaban niveles de infección por encima de

100 huevos por gramo en heces. En estos rebaños se encontró que el 44% resultó resistente mediante el FECRT y el 49% mediante el EHA, incluyendo los rebaños sospechosos de resistencia. La correlación entre ambas pruebas fue muy significativa: $r=0,6$ ($P=0,0001$).

Palabras clave: ovino; nematodos gastrointestinales; resistencia antihelmíntica

INTRODUCCIÓN

Entre los factores sanitarios que interfieren con la producción ganadera ocupan un lugar destacado las infecciones parasitarias. Una gran proporción del ganado ovino en España se explota en régimen extensivo o semi-extensivo, por lo que prácticamente el 100% de los rebaños en pastoreo están infectados por helmintos, y especialmente por nematodos gastrointestinales (NGI). En la mayoría de los animales las infecciones son subclínicas; la presencia de trastornos intestinales en los animales jóvenes poco después de comenzar el pastoreo, junto con el conocimiento de las épocas de riesgo, carácter enzoótico de la zona, etcétera, podrían justificar la sospecha de NGI en el rebaño. Para confirmar el diagnóstico clínico se debe recurrir al laboratorio. Hasta el momento, el diagnóstico se realiza mediante coprología determinando el número de huevos por gramo en heces (hgh).

El adecuado control de las infecciones por NGI mediante fármacos tiene gran importancia en la reducción de las pérdidas de la producción y en el mantenimiento de la salud animal. Sin embargo, en el control de las parasitosis ha habido una excesiva dependencia de los antihelmínticos en toda Europa, aumentando potencialmente los problemas debidos a la resistencia a los fármacos. Esto es de especial importancia ya que cada vez se están demostrando resistencias nuevas a diversos antihelmínticos. Además, la aparición de las resistencias antihelmínticas supone un incremento innecesario de los costes de producción y de la eliminación de residuos al medio ambiente. El incremento de poblaciones parásitas resistentes a los antihelmínticos se ha convertido en un grave problema en muchas áreas del mundo (ver revisión de Jabbar y cols., 2006), ya que incrementa los costes de producción y reduce la eficacia y sostenibilidad del sistema debido a la necesidad de incrementar la presión terapéutica para mantener la producción.

Dentro de este contexto el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de las infecciones por NGI en rebaños pertenecientes a la cooperativa COBADU y, en aquellos que se encontraran parasitados, estudiar la presencia de resistencias antihelmínticas a los benzimidazoles utilizando para ello técnicas *in vivo* e *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

MUESTREO DE EXPLOTACIONES DE GANADO OVINO

El muestreo de las explotaciones de ganado ovino se realizó entre 2014 y 2016, durante los meses de septiembre a mayo, que es cuando la prevalencia de la infección por NGI es especialmente alta. Para ello se seleccionaron explotaciones en régimen extensivo o semi-extensivo y que no hubieran sido desparasitadas en los últimos 2 meses. Para determinar la presencia de la infección por NGI se recogieron heces directamente del recto en al menos 10 animales de cada rebaño. A partir de estas muestras se realizó un pool de heces y se hizo la determinación del número de hgh en 4 muestras de heces recogidas del pool. El número de hgh se determinó utilizando la técnica McMaster modificada. En aquellas explotaciones cuya media de hgh fue mayor de 100 hgh, se realizó la determinación de la resistencia antihelmíntica utilizando técnicas *in vivo* e *in vitro*.

DETECCIÓN DE RESISTENCIAS ANTIHELMÍNTICAS MEDIANTE EL ENSAYO IN VIVO “ENSAYO DE REDUCCIÓN DE HUEVOS EN HECES” O FECRT (FAECAL EGG COUNT REDUCTION TEST)

Para realizar el FECRT se tomaron muestras individuales de heces, directamente del recto, a 45 animales del rebaño en los que se realizó una coprología para determinar el número de hgh. Tras ello se seleccionaron los 30 animales con eliminación más alta de huevos y se agruparon en dos grupos homogéneos, un grupo tratado con un fármaco perteneciente al grupo de los benzimidazoles y otro grupo control tratado con un placebo. A los 14 días tras el tratamiento se recogieron de nuevo las heces para determinar el número de hgh en todos los animales. El cálculo de la eficacia antihelmíntica se calculó a partir de la reducción de huevos entre los dos días utilizando la siguiente fórmula: % reducción = [(media hgh grupo control – media hgh grupo tratado) / (media hgh grupo control)] x 100. Si el porcentaje de reducción es mayor al 95% el rebaño se considera susceptible al fármaco, si se encuentra entre el 95-90% es que existe sospechosa de resistencia, y si es menor del 90% se considera resistente.

DETECCIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA MEDIANTE EL ENSAYO IN VITRO “ENSAYO DE ECLOSIÓN DE HUEVOS” O EHA (EGG HATCH ASSAY)

El EHA se ha diseñado en base a las propiedades ovicidas de determinados fármacos antihelmínticos y en la capacidad de los huevos de cepas resistentes para

embrionar y eclosionar a concentraciones más altas que los de las cepas susceptibles. Esta técnica se utiliza para la detección de resistencias *in vitro* en los fármacos benzimidazoles.

Para realizar el EHA el mismo día que se administró el antihelmíntico para el FECRT se recogió un pool de heces de los 30 animales incluidos en el estudio. Todas las heces mezcladas se guardan en un bote con agua sin aire para evitar el desarrollo de los huevos. Una vez en el laboratorio se aislaron los huevos de las heces mediante técnicas de flotación. Tras recuperar los huevos se realizó el recuento de los mismos y se incubaron en placas de 24 pocillos durante 48 horas a 23°C conjuntamente con tiabendazol a la dosis eficaz 50 (1ugr/ml). Todos los ensayos se realizaron por triplicado incluyendo para todas las explotaciones unos pocillos control con huevos a los que no se administró el fármaco. Tras la incubación se realizó el recuento de larvas (resultantes de huevos que se habían desarrollado) y de huevos muertos (huevos sin desarrollar sobre los que el fármaco fue eficaz) para calcular el porcentaje de eclosión de cada pocillo utilizando la siguiente fórmula: % eclosión = número de larvas / (número de larvas y huevos muertos). El porcentaje de eficacia del fármaco se calculó utilizando la siguiente fórmula: % eficacia = [(media % eclosión pocillos control – media % de eclosión pocillos con fármaco) / (media % eclosión pocillos control)] x 100.

Para cada una de las explotaciones si el porcentaje de eficacia es menor al 50% se considera que el rebaño es resistente, si la eficacia es entre el 50-60% es que hay sospecha de resistencia, y si es mayor al 60% es que es susceptible al fármaco y no hay resistencia.

CORRELACIÓN ENTRE PRUEBAS IN VIVO E IN VITRO

La asociación entre los resultados del FECRT y del EHA se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson utilizando el paquete informático SPSS. Niveles de significación igual o menor a 0,05 se consideraron significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de todo el estudio se realizó el muestreo en 42 rebaños de ganado ovino que se encontraban situados en provincias de Castilla y León, aunque la gran mayoría pertenecían a la provincia de Zamora. La prevalencia de las infecciones por NGI a nivel de rebaño fue del 98% ya que de todas las explotaciones muestreadas excepto una, se encontraban parasitadas. La eliminación media de todos los rebaños infectados por NGI fue de 177 hgh (± 113), con un rango que varió entre 18 y 486 hgh. El 85% de los rebaños presentaron niveles de infección mayores a

100 g/h, por lo que en estas explotaciones fue necesaria la administración de un tratamiento antihelmíntico para el control de las infecciones por NGI. Según un estudio reciente realizado en nuestro país, los antihelmínticos pertenecientes a la familia de los benzimidazoles son los más utilizados en España, por lo que el riesgo de desarrollo de resistencias es mayor en este grupo de fármacos (Rojo-Vázquez y Hosking, 2013). El FECRT finalmente se pudo realizar en 36 explotaciones de los 41 que se encontraban parasitados; en las 5 restantes no se pudo realizar la recogida de heces en algún momento del estudio por lo que no se calculó la eficacia del fármaco administrado, mebendazol.

Según el FECRT el 66% de los rebaños resultaron susceptibles al mebendazol, el 31% resistentes y el 3% con sospecha de resistencia. En cuanto al EHA, el 61% fueron susceptibles al fármaco, el 24% resistentes y en el 15% hubo sospecha de resistencia. La correlación entre ambas pruebas fue muy significativa: $r=0,6$ ($P=0,0001$).

El incremento constante en el número de casos de rebaños resistentes a alguno de los fármacos antihelmínticos en toda Europa (Cringoli y cols., 2007; Martínez-Valladares y cols., 2013), indican que la situación actual podría agravarse sensiblemente si no se toman medidas urgentes. Según estudios llevados a cabo por la Universidad de León, la resistencia se detectó en el 63,6% de los rebaños de ovino muestreados en Castilla y León entre los años 2006 y 2011, independientemente del fármaco antihelmíntico utilizado (Martínez-Valladares y cols., 2013). En cuanto a los fármacos benzimidazoles, los autores describieron unos niveles de resistencias del 13,6%, aunque en ese caso los muestreos se centraron en la provincia de León. En el estudio actual los niveles utilizando ambas técnicas resultaron muy similares, 44% según el FECRT y 49% utilizando el EHA, incluyendo en ambos casos los rebaños con sospecha de resistencia.

CONCLUSIONES

Debido a la confirmación de resistencia antihelmíntica a los benzimidazoles, hasta en el 49% de los rebaños muestreados, se aconseja la determinación de la eficacia del fármaco antes de su prescripción, siendo el test *in vitro* EHA un método rápido y fiable para la determinación de la misma.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el INIA (RTA2013-00064-C02-02) y por la Sociedad Cooperativa Limitada Bajo Duero (COBADU) (20140020001856; 1856)

dentro del programa “Subvenciones destinadas a agrupaciones de productores para la realización de proyectos de investigación aplicada e innovación en determinados sectores ganaderos (2013)” del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRINGOLI, G., VENEZIANO, V., RINALDI, L., SAUVE, C., RUBINO, R., FEDELE, V. Y CABARET, J., 2007. Resistance of trichostrongyles to benzimidazoles in Italy: a first report in a goat farm with multiple and repeated introductions. *Parasitol. Research.* 101, 577-581.
- JABBAR, A., IQBAL, Z., KERBOEUF, D., MUHAMMAD, G., KHAN, M.N. Y AFAQ, M., 2006. Anthelmintic resistance: the state of play revisited. *Life Sci.* 79, 2413-2431.
- MARTÍNEZ-VALLADARES, M., MARTÍNEZ-PÉREZ, J.M., ROBLES-PÉREZ, D., CORDERO-PÉREZ, C., FAMULARO, M.R., FERNÁNDEZ-PATO, N., CASTAÑÓN-ORDÓÑEZ, L. Y ROJO-VÁZQUEZ, F.A., 2013. The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by *in vivo* and *in vitro* techniques. *Vet Parasitol.* 191, 177-181.
- ROJO-VÁZQUEZ, F.A. Y HOSKING, B.C., 2013. A telephone survey of internal parasite control practices on sheep farms in Spain. *Vet. Parasitol.* 18, 166-172.

INCIDENCE OF RESISTANCE TO BENZIMIDAZOLES IN SHEEP FLOCKS

SUMMARY

A large proportion of sheep flocks in Spain is maintained extensively or semi-extensively, therefore almost 100% of grazing flocks are infected by gastrointestinal nematodes (GIN). An adequate control of these infections is necessary to avoid loss of production and to improve animal health, however, abusive use of anthelmintics drugs has led to the appearance of anthelmintic resistance. The objective of this study was to determine the prevalence of GIN infections in sheep flocks and study the presence of anthelmintic resistance to benzimidazole drugs using *in vivo* (fecal egg count reduction test or FECRT) and *in vitro* (Egg hatch assay or EHA) techniques. In the present study we found that the prevalence of infection was 98% of the flocks, 85% of them with infection levels above 100 hgh. In these herds, 44% were resistant by FECRT and 49% by EHA, including flocks suspected of being resistant. The correlation between the two tests was very significant, $r = 0.6$ ($P = 0.0001$).

Keywords: sheep flocks; gastrointestinal nematodes; anthelmintic resistance.