

**Primer informe de resistencia antihelmíntica a monepantel en ovinos de la provincia de Corrientes, Argentina.**

*Vet. Arg. ? Vol. XXXV ? Nº 368 ? Diciembre 2018.*

Illanes, F. A.1; Romero, J. R.1; Niño Uribe, A. I.1, 2; Pruzzo, C. I.1

### **Resumen**

En un ensayo de reducción de la población de larvas de *Haemonchus contortus* en refugio en un establecimiento comercial de la provincia de Corrientes, como paso previo al intento de introducción de una cepa exótica susceptible, se realizaron 5 y 6 tratamientos con monepantel en ovejas y borregas respectivamente, a lo largo del año 2014. Al finalizar el año se detectó una falla en la eficacia de la droga. Por este motivo se realizó una evaluación de la misma mediante un test de reducción de recuento de huevos y posterior test de eficacia controlada por necropsia.

Se tomaron 22 animales de destete (borregas de 25-30 kg), desparasitados con derquantel y abamectina y negativos al control postratamiento. Se esperó la reinfección natural hasta alcanzar una carga parasitaria superior a 1000 HPG promedio.

Los resultados obtenidos confirmaron las sospechas de resistencia, con una eficacia global del 42% en el TRCH, en cuanto a los resultados de necropsia expresan una eficacia total del 70,77%, con valores de 11,25% para *Haemonchus contortus* y 28,57% para *Trichostrongylus colubriformis*. En cuanto a *Cooperia* spp. mantuvo una eficacia del 100. Se documenta el primer caso de resistencia a monepantel en Argentina y se discute la relativa facilidad de generar resistencia a esta droga.

*Palabras clave: Resistencia. Nematodes. Monepantel. Corrientes*

### **First report of antihelmintic resistance to monepantel in sheep of the province of Corrientes, Argentina.**

#### **Summary**

In a trial of reduction the population of *Haemonchus contortus* larvae in refuge in a commercial establishment in the province of Corrientes, as a previous step to the attempt of introduction of susceptible exotic strain, were executed 5 and 6 treatments with monepantel on sheep and lamb respectively, during the 2014. By the end of the year a failure in the effectiveness of the drug was detected. For this reason an evaluation of this effectiveness was carried out by an egg count reduction test and a subsequent efficacy test by necropsy. Twenty-two weaning animals were taken (25-30 kg ewes), dewormed using derquantel and abamectin and negative to post-treatment control. It was waited for the natural reinfection until reaching a parasitic load above 1000 EPG as average.

The results obtained confirmed the suspicious of resistance, with a global effectiveness of 42% in the ECRT, regarding the results of necropsy show an effectiveness of 70.77%, with 11.25% for *Haemonchus contortus* and 28, 57% for *Trichostrongylus colubriformis*. As for the *Cooperia* spp. it was maintained the effectiveness 100%.

It is documented the first case of resistance to monepantel in Argentina and it is discussed the relative case of generating resistance to this drug.

\*Zolvix®, Novartis.

1Facultad de Cs. Veterinarias UNLP ? CEDIVE.

2Becario CONICET.

## Introducción

En zonas templadas, el parasitismo gastrointestinal con predominio de *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*, es un limitante mayor de la producción ovina. El manejo empírico del productor promedio, se centra en el control farmacológico exclusivamente. Esto, inevitablemente en Argentina como en otras regiones, resultó en la aparición de resistencia a los antihelmínticos. Los primeros casos refieren a *Haemonchus contortus* en la provincia de Buenos Aires frente a bencimidazoles (Entrocasso *et al.*, 1988; Romero *et. al.*, 1993).

En 1994, el 46% de las majadas de Argentina presentaban resistencia a bencimidazoles, 40% a levamisol, 11% a la combinación de ambos y 6% a ivermectina (Eddi *et al.*, 1996). En 1998 se observaron los primeros casos de resistencia de *Haemonchus spp.*, a closantel en la Mesopotamia y se comprobó la mayor prevalencia de resistencia en esta región, respecto a todas las drogas en uso (Romero *et. al.*, 1998). Para el 2004, en un nuevo relevamiento patrocinado por FAO, la situación siguió empeorando, el 65% de las majadas a nivel nacional presentó resistencia, el 52% a ivermectina, 55% bencimidazoles y 16% a closantel (Caracostantogolo *et al.*, 2005). Observaciones de los autores, en la provincia de Corrientes elevan la resistencia de *Haemonchus contortus* a closantel a 80% de los establecimientos. Monepantel, introducido en Argentina 2011, era la única droga eficaz frente a cepas de trichostrongylidos ovinos (Anziani *et al.*, 2015). Naftalophos, en la región, solamente se utiliza en Uruguay y derquantel (combinado con abamectina) se introdujo en 2014.

La generalización de casos de resistencia, impone la búsqueda de métodos alternativos de control, como selección de ovinos resistentes, manejo del pastoreo alterno con otras especies y la introducción de cepas susceptibles en establecimientos problema. A partir de una cepa de *Haemonchus contortus* susceptible aislada en Chascomús por los autores (CEDIVE), caracterizada por Guzmán *et al.* (2011), y de estudios previos en pequeña escala, se inició un ensayo de sustitución de la cepa en un establecimiento de la provincia de Corrientes. La estrategia fue reducir la población en refugio en base a tratamientos (con drogas eficaces) durante una temporada, previo al momento más desfavorable a los estados de vida libre según la región, inoculando la cepa exótica antes de la inversión de esas condiciones. En la provincia de Corrientes, prácticamente todo el año es favorable al desarrollo y dispersión de larvas, por lo que se consideró necesario un largo período de tratamientos previos.

El monepantel actúa como agonista sobre receptores colinérgicos específicos de los nematodos (Hco-MPTL-1, en la subunidad ACR-23 del grupo específico DEG-3) (Kaminsky *et al.*, 2008). Produce una hipercontracción de los músculos de la pared corporal del helminto, que culmina con una parálisis espástica y muerte. No presenta resistencia cruzada con otros grupos químicos. Su espectro es reducido a adultos y formas juveniles de nematodos del tracto digestivo (no afecta nematodos pulmonares, cestodos, trematodos, ni ectoparásitos, y la eficacia frente a *Trichuris ovis* es menor (75,2%). En cuanto a la farmacodinamia, tras la administración oral, se absorbe a sangre (biodisponibilidad del 30%), alcanza la CMAX a las 24 hs, con niveles aún eficaces a las 48 hs, eliminándose rápidamente, el 90% en 14 días (80% en heces y 10% en orina). Carece de efecto residual. Se metaboliza principalmente a sulfona (con actividad antihelmíntica). Los residuos se encuentran fundamentalmente en grasa e hígado. Esta indicado exclusivamente para ovinos y caprinos (no bovinos), con eficacia frente a cepas resistentes a otras drogas. (Steffan *et al.*, 2011 a, b).

Pese a ser una molécula reciente, la primera del grupo, se han reportado casos de resistencia en Nueva Zelanda en 2013 (frente a *Teladorsagia circumcincta* y *Trichostrongylus colubriformis*) (Scott *et al.*, 2013), Uruguay (frente a *Haemonchus contortus*) (Mederos *et al.*, 2014), Países Bajos (Van den Brom *et al.*, 2015), Brasil (Cintra *et al.* 2015) y Australia (Sales *et al.*, 2016).

### **Materiales y métodos**

El trabajo se realizó en un establecimiento comercial de 436 Has. del Dto. De Curuzú Cuatiá, sur de Corrientes, con 480 ovinos y 250 bovinos sobre una base forrajera de pastizales naturales de la región. Se estableció un protocolo de seguimiento mensual desde enero 2013 con el tratamiento en cualquier categoría de la majada, cuando los recuentos de huevos superaron los 200 HPG, lo que llevó a 4 y 5 dosificaciones a ovejas y borregas de reposición respectivamente durante el primer semestre. La incipiente falta de eficacia en un tratamiento de primavera, atribuida tempranamente a errores operativos, derivó en una fuerte sospecha de resistencia, debido a una mas evidente falla en diciembre. Por lo que se suspendió el trabajo de base, se realizó un test de reducción de conteo de huevos (TRCH) y una prueba de eficacia controlada por necropsia (TEC) de animales tratados y controles.

Se desparasitaron las borregas de recría (6-8 meses y 25-30 kg PV), en febrero con derquantel (2 mg/kg PV) más abamectina (0,2 mg/kg PV) ? (Startect -Zoetis®), comprobándose su eficacia (HPG 0 en todos los animales 7 días postratamiento). Luego, se dejó pastorear en los potreros habitualmente ocupados por lanares y mediante monitoreo por HPG periódico, se esperó una reinfección natural.

Cuando los recuentos de HPG alcanzaron los 1000 huevos, se seleccionaron 22 animales, 11 de los cuales se trataron con 2,5 mg/kg PV de monepantel (Grupo Tratado ? GT) y otros 11, se dejaron como control sin tratar (Grupo Control ? GC). Al 6to día se compararon los HPG, aplicando la fórmula de Presidente et. al. (1985) y se sacrificaron 5 animales de cada grupo, siguiendo los procedimientos sugeridos por la WAAVP (Coles et. al., 2006). El valor estadístico de los resultados fue analizado por la prueba de Kruskal-Wallis.

## Resultados

Los resultados de reducción del conteo de huevos se vuelcan en la **Tabla 1**. Los promedios de HPG iniciales fueron 1800 para el GC y 1671 para el GT (Valor-P=0,58). Los resultados luego del tratamiento fueron 1825 y 1058 HPG, en los grupos GC y GT respectivamente no presentando diferencias estadísticamente significativas (Valor-P=0,14). La reducción del conteo de huevos, considerando todos los géneros fue de 42% según la fórmula de Abbot (IC: 0-71) y similar para cada uno de los dos parásitos principales (42% para *Haemonchus spp.*, y 41% para *Trichostrongylus spp.*, aunque para este último la carga parasitaria en los coprocultivos no era muy elevada).

Grupo Control		Grupo Tratado	
HPG pretto	HPG postto	HPG pretto	HPG postto
4500	2700	1800	2200
1000	900	1200	300
1600	2100	1000	500
600	900	2000	900
1500	2600	2400	600
1700	1600	1000	700
900	200	2300	900
1200	200	1300	800
900	800	2900	3600
2100	2900	2200	800
3600	5200	900	700
$\bar{x}$ 1800	$\bar{x}$ 1825	$\bar{x}$ 1671	$\bar{x}$ 1058
<b>Eficacia</b>		<b>42,01%</b>	

**Tabla 1:** Resultados del TRCH. Se observan los recuentos de HPG individuales previos al tratamiento (HPG pretto) y luego del mismo (HPG postto) para cada uno de los grupos (Grupo Control y Grupo Tratado). En las necropsias (**Tabla 2**), se compararon los recuentos de cada parásito en el GT versus el GC, resultando una eficacia del 100% respecto de *Cooperia punctata* y *Cooperia pectinata* (Valor-P=0,00064). Para *Haemonchus contortus* fue de 11,25% (Valor-P=0,75) y para *Trichostrongylus colubriformis* la eficacia fue de 0,00% (Valor-P=0,91). Frente a *Trichuris ovis* la eficacia fue de 50% (Valor-P=0,88), pero con una carga de escasa representación en los animales de la prueba.

**Tabla 2:** Resultado de estudios de HPG y necropsias de los animales utilizados en el TEC.

Se observan los recuentos de cada género y especie parasitaria para cada animal de cada grupo.

ID	H.c.	C.punct.	C.pect.	T.col.	T.ovis	Total de parásitos	HPG pretto	HPG postto	
Grupo Control	201	610	50	0	100	0	760	4500	2700
	243	33	50	0	0	0	83	1500	2600
	256	450	933	267	0	0	1650	900	800
	258	950	1934	516	50	100	3550	2100	2900
	260	1450	1874	2576	200	0	6100	3600	5200
	Prom.	698,6	968,2	671,8	70	20	2429	2520	2840
Grupo Tratado	221	1600	0	0	50	50	1700	1800	2200
	225	0	0	0	50	0	100	1200	300
	234	800	0	0	50	0	850	2300	900
	244	150	0	0	0	0	150	1300	800
	261	550	0	0	200	0	750	900	700
	Prom.	620	0	0	70	10	710	1500	980
Eficacia (%)	11,25	100	100	0	50	70,76	-	42,02	

**H.c.:** Haemonchus contortus; **C.punct.:** Cooperia punctata; **C.pect.:** Cooperia pectinata;

**T.col.:** Trichostrongylus colubriformis; **T.ovis:** Trichuris ovis. **Discusión y conclusión**

Queda demostrado que el uso de monepantel en una secuencia relativamente corta de tratamientos consecutivos, es suficiente para desarrollar la resistencia. Tal como lo demostraron los trabajos en Australia con *Teladorsagia circumcincta*, en base a la inoculación de larvas provenientes de huevos sobrevivientes al tratamiento (Scott et. al., 2013), como en los ya varios casos de campo (Mederos et. al., 2015; Sales et. al., 2016). El supuesto de reducir la población en refugio de una cepa, basándose exclusivamente en dosificaciones antiparasitarias debe reconsiderarse, o complementarse con otras medidas de manejo si se dispone de una sola droga. Este informe agrega a Argentina a la casuística de resistencia al monepantel y reafirma todo programa de manejo, que tienda a la reducción del número de tratamientos para el control de las trichostrongylosis en poblaciones de rumiantes.

#### Bibliografía:

- ANZIANI O.S.; FIEL C.A. (2015) Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en la Argentina. RIA. Rev. investig. agropecu. vol.41 no.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires abr. 2015 RIA. Revista de investigaciones agropecuarias -versión On-line ISSN 1669-2314 (consulta 28/7/2018).
- Caracostantogolo J.; Castaño R.; Cutullé Ch.; Cetrá B.; Lamberti R.;

- Olaechea F.; Ruiz M.; Schapiro J.; Martínez M.; Balbiani G.; Castro M. (2005). Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. ISBN: 92-5-305428-X; ISSN: 1014-1200, FAO Producción y Sanidad Animal, Estudio, Resistencia a los antiparasitarios internos en Argentina, 7?34.
- CINTRA M.C.R.; TEIXEIRA V.N.; NASCIMENTO L.V.; SOTOMAIOR C.S. (2015). Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Veterinary Parasitology* <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.11.013>.
  - COLES G.C.; BAUER C.; Borgsteede F.H.M.; Geerts S.; Klei T.R.; Taylor M.A.; Waller J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol* 44: 35?44.
  - Coles G.C.; Jackson F.; Pomroy W.E.; Prichard R.K.; Von Samson-Himmelstjerna G.; Silvestre A.; Taylor M.A.; Vercruyse J. (2006). WAAVP methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol* 136: 167?185.
  - Eddi C.; Caracostantologo J.; PeÒa M.; Schapiro J.; Marangunich L.; Waller P.J.; Hansen J.W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematodes parasites in sheep in Southern Latin America: Argentina. *Veterinary Parasitology* 62: 189-197.
  - Entrocasso C; Lange, R; Fernández Ripoll (1988) Resistencia antiparasitaria al oxfendazole en ovinos en un establecimiento de la provincia de Buenos Aires. *Memorias del VI Congreso Arg de Ciencias Vet. Buenos Aires. 1988. Com. libre 208.*
  - GUZMAN M. (2011). Genotype characterization of strains of *Haemonchus contortus* susceptible or resistant to benzimidazole treatment in Argentina. Tesis Doctoral. FCV.UNC. Argentina.
  - KAMINSKY R.; DUCRAY P.; JUNG M.; CLOVER R.; RUFENER L.; BOUVIER J.; SCHORDERET WEBER S.; WENGER A.; WIELAND-BERGHAUSEN S.; GOEBEL T.; GAUVRY N.; PAUTRAT F.; SKRIPSKY T.; FROELICH O.; KOMOIN-OKA C.; WESTLUND B.; SLUDER A.; MÄSER P. (2008). A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature*, Vol 452; 13 March 2008.
  - KAMINSKY R.; BAPST B.; STEIN P.A.; STREHLAU G.A; ALLAN B.A.; HOSKING B.C.; ROLFE P.F.; SAGER H. (2010). Differences in efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against multi-resistant nematodes of sheep. *Parasitol Res* (2011) 109:19?23.
  - LOVE S. (2014). Further reports of monepantel resistance. *Veterinary Record* 175:17 4.
  - Mederos A.; Ramos Z.; Banchemo (2014). First report of monepantel

*Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. Parasites & vectors 7: 598.

- PRESIDENTE P.J.A. (1985). Methods for detection of resistance to anthelmintics. In: resistance in nematodes to anthelmintic drugs. Ed: Anderson, N. and Waller, P.J. CSIRO Division Animal Health: 13-27.
  - RAZA A.; LAMB J.; CHAMBERS M.; HUNT P.W.; KOTZE A. C. (2016). Larval development assays reveal the presence of sub-populations showing high- and low-level resistance in a monepantel (Zolvix®)-resistant isolate of *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology 220 (2016) 77-82.
  - ROMERO J.; BOERO C.; VÁZQUEZ R.; ARISTIZABAL T.; BALDO A. (1998). Estudio de resistencia a anti-helmínticos en majadas de la mesopotamia argentina. Rev Med Vet 79:342 ? 346.
  - RUFENER L.; MÄSER P.; RODITI I.; KAMINSIKY R. (2009). Hamonchus contortus acetylcholine receptors of the DEG-3 subfamily and their role in sensitivity to monepantel. Plos Pathogens Vol 5. April 2009.
  - SALES N.; LOVE S. (2016). Resistance of *Haemonchus* sp. to monepantel and reduced efficacy of a derquantel / abamectin combination confirmed in sheep in NSW, Australia Vet Parasitol. 2016 Sep 15;228:193-196. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.08.016. Epub 2016 Aug 23.
  - SCOTT I.; POMROY B.; PAUL. K.; GREG S.; BARBARA A.; MOSS A. (2013). Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. Vet. Parasitol. 198:166-171.
  - STEFFAN P.; SÁNCHEZ E.; ENTROCASSO C.; FIEL C.; LLOBERÁS M.; RIVA E.; GUZMÁN M. (2011). Eficacia de Monepantel contra Nematodes de Ovinos con Resistencia Antihelmíntica Múltiple en la Región Templada de Argentina. (2011) Vet. Arg. XXVIII- 273.
  - STEFFAN P.; FIEL C.; REGGI J.; RIVA E.; GUZMÁN M. (2011). Efficacy of Monepantel against multiple anthelmintic resistant nematodes of sheep in the subtropical area of Argentina. 23<sup>o</sup>Conference of WAAVP. Bs.As. Agost 2011.
  - VAN DEN BROM R.; MOLL L.; KAPPERT C.; VELLEMA P. (2015). *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. Vet. Parasitol. 2015 Apr 30; 209 (3-4): 278-80.
-