

PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A ANTIHELMÍNTICOS EN GANADERÍAS OVINAS DE ARAGÓN.

Calavia, R.¹, Ferrer, L.M.², Ramos, J.J.², Lacasta, D.², Uriarte, J.¹ y Calvete, C.¹
¹CITA de Aragón. Avda de Montañana 930. 50059-Zaragoza. Dpto Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. *E-Mail: rcalavia@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales son responsables de elevadas pérdidas económicas en la ganadería de ovino y caprino. A pesar de la existencia de diferentes métodos de control de las infecciones, la administración de compuestos antiparasitarios constituye el método más extendido, lo que ha ocasionado la aparición de fenómenos de resistencia en las poblaciones de parásitos, comprometiendo la viabilidad futura de los sistemas productivos.

El fenómeno de resistencia se define como el aumento significativo del número de individuos de una población de parásitos, capaces de soportar niveles de fármaco que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie. Posee un carácter heredable e irreversible, siendo un proceso de selección impuesto por el uso de antihelmínticos e influenciado por factores ligados al propio parásito, al huésped y al manejo (Jabbar et al., 2006).

En ausencia de control el fenómeno de la resistencia crece exponencialmente, por lo que es indispensable su detección precoz y la identificación de los factores que predisponen su desarrollo. Hasta el momento, en España solo se han realizado dos estudios orientados a estimar la prevalencia de la resistencia en el Noroeste del país (Álvarez-Sánchez et al., 2006; Díez-Baños et al., 2008). Es por esto que en el presente trabajo hemos tratado de estimar la resistencia frente a Bencimidazoles (BZ) en el Noreste de la Península a escala regional y detectar las asociaciones entre niveles de resistencia y los factores ambientales y de manejo relacionados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Desde Marzo de 2007 hasta Junio de 2009 se muestrearon un total de 107 explotaciones de ovino distribuidas en 67 localidades de las tres provincias de Aragón. En cada una de ellas se tomaron muestras de heces de 30-40 animales, con las que se estimó el número de huevos de nematodos gastrointestinales por gramo de materia fecal (HPG) mediante el método McMaster y se identificó la abundancia relativa de los géneros presentes mediante coprocultivo. La resistencia frente a BZ se valoró mediante el Test de Eclosión de Huevos (EHA), determinando la proporción de huevos (Pdd) que eclosionan a dosis discriminante (0,1 µg/ml de Tiabendazol). Aunque esta dosis previene la eclosión del 99% de huevos sensibles expuestos al producto, siguiendo los criterios adoptados en otros estudios, se consideraron valores de Pdd $\geq 0,5$ como indicadores de resistencia.

Así mismo, en cada explotación se realizó una encuesta sobre su manejo, que incluía cuestiones relacionadas con (1) el censo; (2) el riesgo de importación de parásitos (se consideró positivo cuando la reposición se efectuó con animales procedentes de otros rebaños y no se practicó ningún protocolo de cuarentena); (3) uso de pastos privados; (4) la frecuencia anual de desparasitación; (5) la época de desparasitación; (6) la familia de antihelmínticos usada; y (7) el riesgo de subdosificación (se consideró positivo cuando la dosificación se realizaba en función del peso medio de los animales, y negativo cuando se realizaba en función de los animales más pesados). En el momento del muestreo, además, cada explotación fue referenciada geográficamente mediante un receptor GPS. Utilizando las coordenadas geográficas se extrajeron 10 capas numéricas relativas a diferentes usos del suelo y cuatro variables climáticas extraídas de las bases de datos CORINE y WORLDCLIM. Como estas 14 variables están altamente correlacionadas entre sí, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) reduciendo los datos originales a seis variables bioclimáticas artificiales (factores-PCA, F1 a F6), que explicaron el 82,9% de la varianza original.

Con el fin de identificar los posibles factores asociados a los niveles de resistencia frente a BZ, se realizó un análisis de regresión multivariante donde la raíz cuadrada de Pdd fue la variable dependiente. En el modelo inicial se introdujeron como variables predictoras las referentes al manejo recogidas en la encuesta (introducidas como indicadoras) y un grupo de variables medioambientales compuesto por las seis variables bioclimáticas y la época del año, dividida en trimestres, en que se realizó el muestreo. Para obtener el modelo final, se procedió a ajustar todos los modelos de regresión que incluyesen la totalidad de las combinaciones posibles de las variables predictoras, siendo seleccionado aquél que presentó el mayor valor del parámetro R^2 -ajustado.

La variación estacional de los porcentajes relativos de los diferentes géneros de nematodos se evaluó mediante MANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los géneros identificados y su prevalencia fueron *Teladorsagia* sp. (100%), *Chabertia* sp. (56%), *Haemonchus* sp. (14%) y *Trichostrongylus* sp. (14%). *Teladorsagia* sp. fue el género dominante, con una abundancia relativa superior al 85% en todos los periodos de muestreo, seguido de *Chabertia* sp. (< 10%) y *Haemonchus* sp. y *Trichostrongylus* sp., cuya abundancia relativa fue inferior al 5%.

De todas las explotaciones muestreadas, tan solo 12 presentaron valores de Pdd $\geq 0,5$, indicando una prevalencia de rebaños con resistencia del 11%. Esta prevalencia es semejante a la denunciada en otros países con un manejo similar de los rebaños (Várady et al. 2006) y ligeramente inferior a las estimadas en el Noroeste de España (18-29%) (Álvarez-Sánchez et al., 2006; Díez-Baños et al., 2008). No obstante, sólo en dos muestras se encontraron valores de Pdd inferiores a 0,01, lo que indica que en el 98% de las explotaciones existen cepas resistentes. Este hecho pone en evidencia que, aunque la resistencia a BZ no es, en la actualidad, un problema en Aragón, podría incrementarse a niveles más elevados en un futuro.

El modelo final de regresión explicó el 28,1% de la variación de la resistencia ($F = 2,89$; $P = 0,004$). Las variables de manejo que quedaron asociadas a estas variaciones fueron, de forma directa, la frecuencia de desparasitación, el uso de pastos privados y el riesgo de subdosificación, y de forma inversa el uso exclusivo de BZ. Los niveles de resistencia fluctuaron estacionalmente, siendo superiores en la época enero-marzo y su variación también estuvo relacionada con cinco de los factores-PCA (Tabla 1).

Las tres primeras variables han sido ampliamente reseñadas en la bibliografía como mecanismos importantes para el desarrollo de la resistencia. La frecuencia de desparasitación incrementa la presión de selección de cepas resistentes, el uso de pastos privados impide la dilución de genes de resistencia, mientras que la utilización de dosis subterapéuticas (subdosificación) favorece la supervivencia de parásitos resistentes heterocigotos. El hecho de haber encontrado una asociación inversa entre el uso exclusivo de BZ y los niveles de resistencia, podría deberse a la sustitución de los BZ por antihelmínticos de otras familias en aquellos rebaños en los que se hubiera detectado una disminución de su eficacia.

Respecto a la estacionalidad detectada, no parece deberse a diferencias entre los niveles de tolerancia propios de cada género, ya que no se encontró una variación significativa de la composición de géneros en las diferentes épocas de muestreo (Wilks =0,87; $F = 1$; $P = 0,332$). Ello sugiere que, además del componente genético, el diagnóstico de éste fenómeno se podría ver afectado por otros factores, como cambios en el sistema inmunitario del hospedador consecutivos a su estado fisiológico y nutricional e incluso el efecto directo de la dieta sobre la fisiología del parásito.

La interpretación del análisis de los factores-PCA evidenció que los niveles de resistencia tendieron a ser mayores en aquellos rebaños localizados en áreas de montaña y somontanos localizados sobre todo en el noroeste de Aragón. Es conocido que las condiciones bioclimáticas determinan la dinámica de las relaciones parásito-hospedador y la supervivencia de los estadios de vida libre en el medio ambiente. También se admite que

uno de los factores más importantes relacionados con el desarrollo de resistencia es la proporción de la población parasitaria en refugio en el momento de la administración del antihelmíntico, es decir, la parte de la población parasitaria que no está en contacto con el fármaco y que está constituida sobre todo por los estadios de vida libre. En consecuencia, los resultados del presente trabajo podrían estar indicando que el clima y sus interacciones con el manejo antiparasitario llevado a cabo en estas zonas podrían ser factores que contribuyen a un desarrollo más rápido de resistencia. No obstante, esta interpretación debería tomarse con precaución, dado que las asociaciones con las variables bioclimáticas podrían deberse simplemente a la distribución geográficamente agregada de los rebaños con mayores niveles de resistencia, no estando relacionadas, por lo tanto, con verdaderos factores biológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Sánchez, M.A., Pérez-García, J., Cruz-Rojo, M.A., Rojo-Vázquez, F.A., 2006. Parasitol. Res. 99, 78-83.
- Díez-Baños, P., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Francisco, I., Suárez, L., Díaz, P., Panadero, R., Arias, M., Paineira, A., Paz-Silva, A., Morrondo, P. 2008. J. Parasitol. 94, 925-928.
- Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M.N., Afaq, M., 2006. Life Sci. 79, 2413-2431.
- Várady, M., Cudeková, P., Corba, J., 2007. Vet. Parasitol. 149, 104-110.

Agradecimientos: El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA_MEC RTA2006-00183-C03-01. Rebeca Calavia recibe una beca de formación de investigadores de tipo predoctoral de INIA.

Tabla 1. Parámetros de la regresión lineal (ES) a partir de las variables de manejo y bioclimáticas retenidas en el modelo final

| Variables de Manejo | | Variables Bioclimáticas | |
|----------------------------|----------------|-------------------------|----------------|
| | Parámetro (ES) | | Parámetro (ES) |
| Frecuencia Desparasitación | 0,06 (0,04) | Enero-Marzo | -0,14 (0,06) |
| Uso Pastos Privados | 0,11 (0,05) | F1 | -0,06 (0,02) |
| Uso exclusivo BZ | -0,10 (0,05) | F3 | -0,02 (0,02) |
| Subdosificación. | 0,05 (0,05) | F4 | -0,04 (0,03) |
| | | F5 | -0,04 (0,02) |
| | | F6 | -0,04 (0,02) |

PREVALENCE AND ASSOCIATED FACTORS IN ANTHELMINTIC RESISTANCE IN SHEEP FLOCKS OF ARAGON

ABSTRACT: A survey to determine the level of flock resistance to benzimidazoles (BZ) was performed under field conditions in 107 commercial sheep farms from Aragon region (NE Spain). Resistance was measured using the in vitro egg hatch assay (EHA) in the simplified form of discriminant dose. Management and environmental variables were compiled from each flock and their relationships with resistance levels analyzed in a multivariate approach. Estimated prevalence of resistant flocks was 11% although presence of BZ resistant parasite strains was suspected in 98% of samples. Frequency of deworming, grazing in private pastures and subdosification were management variables positively related to resistance levels whereas using benzimidazoles only was negatively, probably because they were substituted by other anthelmintic groups in flocks where reduced BZ efficacy was suspected. Different uses of soil in addition to climatic conditions and seasonality were environmental variables associated with observed resistance levels.

Keywords: anthelmintic resistance; benzimidazoles; sheep.