

REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA AL ALBENDAZOL Y al CLORSULÓN EN OVINOS INFECTADOS POR *F. hepatica* MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE AMBOS FARMACOS

Martínez-Valladares M.¹, Cordero-Pérez C.², Rojo-Vázquez F.A.^{1,2}

¹ Departamento de Sanidad Animal del Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Grulleros, 24346. León. ² Facultad de Veterinaria de León, Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Sanidad Animal, 24071. León. *E-mail: mmarva@unileon.es

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis ovina tiene especiales repercusiones ya que, además de las alteraciones que caracterizan a las formas aguda y subaguda, la infección crónica limita de forma notable las producciones reduciendo el crecimiento, alterando la conversión de alimentos, disminuyendo la producción de leche y de carne y afectando a la calidad y cantidad de la lana. Además, hay una clara interferencia con la fertilidad y fecundidad (Hope-Cawdery, 1984). Esto es especialmente importante puesto que la prevalencia de la fasciolosis está aumentando considerablemente en algunas zonas de Latinoamérica, África y Asia. El problema puede llegar a alcanzar dimensiones preocupantes si se tiene en cuenta la reciente aparición de resistencias a los antihelmínticos (RA) con acción fasciolicida.

En España, la fasciolosis ovina muestra una distribución relacionada con la existencia de determinados hábitats en los que existen limneas, caracoles que actúan como hospedadores intermediarios del parásito. En la comunidad autónoma de Castilla y León, destacan los lugares que cuentan con sistemas de regadío y deficiencias para el drenaje. En las zonas montañosas, el clima permite el desarrollo tanto de los hospedadores intermediarios como del parásito. Alguno de los factores indicados ha favorecido el desarrollo de resistencias a los fasciolicidas en la provincia de León. En este sentido, en 2006, se diagnosticó por primera vez en España, un problema de fallos terapéuticos debido a la RA frente al albendazol (ABZ) y triclabendazol (TCBZ) (Álvarez-Sánchez et al., 2006); y, desde entonces, se han diagnosticado nuevos casos, con la particularidad de que probablemente la prevalencia sea mayor ya que hasta el momento no hay fasciolicidas alternativos. Una de las principales premisas para evitar que la resistencia antihelmíntica adquiera proporciones indeseables es el desarrollo de nuevos métodos para el control de la fasciolosis.

En el presente trabajo se exponen los resultados de un estudio para determinar la eficacia de una combinación de ABZ y clorsulón (CLOR) en una explotación de ganado ovino con fasciolosis en la que previamente se había detectado resistencia a ambos tratamientos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo preliminar de explotaciones ovinas de la provincia de León con historial de fasciolosis. Para confirmar la infección, en cada rebaño se tomaron heces de 60 animales y se analizaron mediante la técnica de sedimentación calculando el número de huevos de *F. hepatica* por gramo de heces (hgh).

Ensayo preliminar de reducción de huevos en heces o FECRT (Faecal Egg Count Reduction Test):

Una vez confirmada la infección, se llevó a cabo el FECRT para detectar resistencia a los antihelmínticos frente a diferentes fármacos. Los animales seleccionados se dividieron en tres grupos de 12 ovinos cada uno y cada lote se trató con un antihelmíntico diferente a la dosis recomendada: G1-ABZ (7.5 mg/kg p.v.), por vía oral; G2-TCBZ (10 mg/kg p.v.), por vía oral; G3-CLOR (2 mg/kg p.v.), por vía subcutánea. Antes del tratamiento, cada oveja se pesó, se determinó su estado físico y condición corporal. Se tomaron muestras de heces de cada animal el día del tratamiento (día 0) y los días 15 y 30 post-tratamiento (p.t.). El análisis de las mismas se hizo por sedimentación, calculando el número de hgh en cada grupo mediante la media aritmética. El cálculo de la reducción de huevos en heces para cada fármaco se realizó los días 15 y 30 p.t. mediante la siguiente fórmula:

$$\text{FECRT (\%)} = (\text{Hgh día 0} - \text{Hgh día 15/30}) / \text{Hgh día 0} \times 100$$

Cuando el porcentaje es mayor al 95%, el fármaco se considera eficaz; si la reducción está entre el 90-95%, se sospecha resistencia; y si es menor del 95%, existe resistencia al fármaco correspondiente.

Ensayo de reducción de huevos en heces con una combinación de fármacos:

En el mismo rebaño se hicieron dos ensayos de valoración de la eficacia – mediante FECRT – de antihelmínticos tras administrar una combinación de ABZ y CLOR. En el primero, se administraron ABZ+CLOR a la mitad de la dosis terapéutica a un grupo de 9 animales infectados con *F. hepatica* (3.75 mg/kg p.v. ABZ + 1 mg/kg p.v. CLOR). En el segundo, se administraron ambos fármacos a dosis terapéutica (7.5 mg/kg p.v. ABZ + 2 mg/kg p.v. CLOR).

Tanto los ensayos como el cálculo de la FECRT se realizaron siguiendo las pautas para el ensayo preliminar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo preliminar del FECRT se muestran en la Tabla 1. Se tomaron heces los días 15 y 30 p.t. con objeto de calcular la eficacia del fármaco frente a las formas maduras e inmaduras de *F. hepatica*, respectivamente. En cepas susceptibles de *F. hepatica*, la eficacia del ABZ y del CLOR inyectable es exclusivamente frente a las formas maduras, con un porcentaje de reducción del 80-99%, ya que frente las inmaduras rondan el 50-70%. Sin embargo, el TCBZ es muy eficaz frente a todos los estadios del parásito con valores entre el 90-100% (Fairweather y Boray, 1999). En función del FECRT, ni el tratamiento con ABZ ni con CLOR fue eficaz frente a las formas maduras (Tabla 1). Además la eficacia de ambos fármacos frente a las inmaduras fue menor de los porcentajes esperados en ausencia de resistencia. El único fármaco eficaz fue TCBZ, con valores superiores a 95% tanto frente a inmaduros como a los adultos.

Entre los métodos de control de la RA propuestos, se encuentra la combinación de fármacos pertenecientes a distintas familias, una vez que el fallo terapéutico se haya descrito para cada uno de ellos. Los resultados del primer ensayo muestran que cuando se administra la mitad de la dosis de cada uno, la eficacia es muy baja, tanto frente a formas maduras como inmaduras (Tabla 2). Sin embargo, cuando la dosis utilizada fue la recomendada la combinación resultó eficaz alcanzando valores superiores al 95%, tanto frente a inmaduros como adultos (Tabla 2). No está totalmente aclarada la causa por la que la administración conjunta es eficaz, aunque podría deberse a un fenómeno relacionado con la transportadores de membrana dependientes de ATP (ABC transportes) como parece suceder con otras combinaciones de antiparasitarios.

Estos ensayos constituyen la primera descripción sobre una posible reversión de la RA en ovinos infectados por *F. hepatica*. Otros autores han demostrado la posibilidad de aumentar la eficacia antiparasitaria frente a tricostrongídeos ovinos combinando ABZ e ivermectina (Entrocasso et al., 2008).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Sánchez, M.A., Mainar-Jaime, R.C., Pérez-García, J. & Rojo-Vázquez, F.A. 2006. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. *Vet Rec.* 159:424-5.
- Entrocasso, C., Alvarez, L., Manazza, J., Lifschitz, A., Borda, B., Virkel, G., Mottier, L. & Lanusse, C. 2008. Clinical efficacy assessment of the albendazole-ivermectin combination in lambs parasitized with resistant nematodes. *Vet. Parasitol.* 155:249-56.
- Fairweather, I. & Boray, J.C. 1999. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. *Vet J.* 158: 81-112.
- Hope-Cawdery, M.J. Review of the economic importance of fascioliasis in sheep and cattle. 1984. *Ir. Vet. News:* 14-22.
- Overend, D.J., Bowen, F.L. 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.* 72:275-6.
- Vara-Del Río, M.P. 2007. Control de la fasciolosis ovina: estudios sobre las resistencias a los fasciolicidas y desarrollo de técnicas para su detección y métodos de control. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

Agradecimientos: Estudio financiado por el INIA (Ref, RTA2006-00183-C03-02). Trabajo de M. Martínez-Valladares financiado con un contrato Jae-Doctor del CSIC.

Tabla 1. Hgh a lo largo del ensayo preliminar y porcentaje de reducción los días 15 y 30 post-tratamiento

Tratamiento	Día 0	Día +15	FECRT (+15)	Día +30	FECRT (+30)
ABZ	62,5	73,5	-17,60%	105	-68%
CLOR	85,5	12,7	85,20%	47,1	44,90%
TCBZ	47,7	1,4	97,20%	1,4	97,20%

Tabla 2. Hgh cada día de los ensayos con la combinación de fármacos y el porcentaje de reducción de huevos los días 15 y 30 post-tratamiento.

Tratamiento	Día 0	Día +15	FECRT (+15)	Día +30	FECRT (+30)
1/2 ABZ + 1/2 CLOR	90	75	16,70%	100	-13,30%
ABZ + CLOR	210	1,9	99,10%	3,8	98,20%

REVERSION OF THE ANTHELMINTIC RESISTANCE of *F. hepatica* RESISTANT TO ALBENDAZOLE AND CLORSULON IN OVINES BY COMBINING THE TWO DRUGS

ABSTRACT: Fasciolosis remains as an important disease in sheep and at present there is an increase in its prevalence in many countries. Some of the factors involved in this re-emergence are those related to the climate change, increase of irrigated areas and the development of anthelmintic resistances (AR). The chemoprophylaxis is the most commonly used method to control the infection and the inadequate use of drugs favours the development of AR. In order to avoid the spread of resistance is desirable to find new ways to control the infection. As a consequence, we have studied the efficacy – by using FECRT method – of a combination of two drugs in a flock with fasciolosis in which the resistance to albendazole (ABZ) and clorsulon (CLOR) was previously detected. Three trials were carried out. The first one was done to check the efficacy of ABZ, triclabendazole (TCBZ) and CLOR. The results showed that the reduction percentages were -17.60% (ABZ) and 85.20% (CLOR). When the combination of the two drugs was administered jointly with the half of the recommended dose of each, the reduction of the egg excretion was very low, -13.3%, against adult flukes. Nevertheless, when the two drugs were administered at therapeutic doses, the efficacy reached values higher than 98% against both adult and juvenile flukes. This study is the first report describing the possible reversion of the AR in sheep infected with *F. hepatica* by means of a drug combination.

Keywords: *Fasciola hepatica*; anthelmintic resistance; albendazole; clorsulon; combination.