

Universidad Nacional  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Medicina Veterinaria

**Práctica dirigida: “Diagnóstico de campo y laboratorial de  
parasitosis gastrointestinales en ovinos de Costa Rica”**

Modalidad: Práctica Dirigida

Trabajo Final de Graduación

Isabel Castro Arnáez

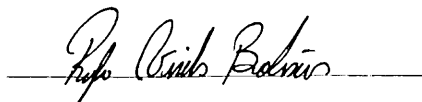
Tutora: Natalia Soto Barrientos M.Sc.  
Lectores: Bernardo Vargas Leitón Ph.D.  
Víctor Montenegro Hidalgo Ph.D.

Campus Pbro. Benjamín Núñez, Heredia

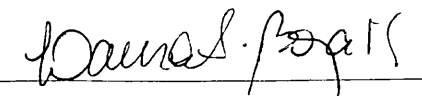
2019

## TRIBUNAL EXAMINADOR

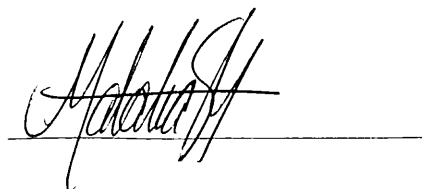
Rafael A. Vindas Bolaños Ph.D  
Decano Facultad Ciencias de la Salud



Laura S. Bouza Mora M.Sc  
Representante de Dirección Escuela Medicina Veterinaria



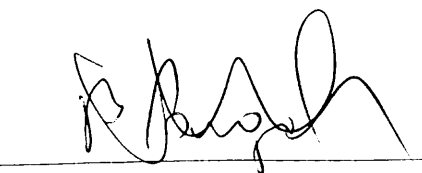
Natalia Soto Barrientos M.Sc  
Tutora



Víctor Montenegro Hidalgo Ph.D.  
Lector



Bernardo Vargas Leitón Ph.D.  
Lector



Fecha: 11-10-2019

## **DEDICATORIA**

Le dedico este trabajo a mis padres y a mi hermana, por todo el apoyo brindado a lo largo de mi vida, por todo el amor que me han dado, por las cosas que me han enseñado y por impulsarme siempre a salir adelante. Se lo dedico también a mi pareja, a mis amigos, y al resto de mi familia y a todos los que me ayudaron a lo largo de esta práctica. Y en especial se lo dedico a Dios por llenar mi vida de bendiciones.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme la vida, llenarme de bendiciones, poner siempre oportunidades en mi camino y permitirme estudiar la carrera que siempre quise.

A mi mamá, mi papá, mi hermana Gaby, Kenneth y el resto de mi familia por amarme y apoyarme siempre, en especial a mis padres por haber siempre impulsado mi educación.

A Meli, Fari, Mari, Caro, Vale, Alexa, Gaby, Cris y Diego, así como al resto de mis compañeros y amigos por apoyarme siempre y aguantarme en los momentos de desesperación, pero en especial por ser mi segunda familia.

A la Dra. Natalia Soto y el Dr. Montenegro por todas las giras, el conocimiento, las risas y las enseñanzas de vida.

A Cesar Pérez y Mariana Vargas porque sin ustedes no lo hubiera logrado.

A todos los que pasaron por el Laboratorio de Parasitología y de algún modo me ayudaron.

Al Dr. Bernardo Vargas por aceptar ser el lector de este trabajo.

A todos los productores que con la mejor disposición abrieron las puertas de sus fincas para poder llevar a cabo este trabajo.

Por último, quiero agradecer a todas las personas que se han cruzado en mi camino y que de un modo u otro me han ayudado a llegar a este punto en mi vida.

# Índice de Contenidos

	<b>Página</b>
<b>Contenido</b>	
TRIBUNAL EXAMINADOR .....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
Índice de Contenidos.....	iv
Índice de Cuadros.....	v
Índice de Figuras .....	vi
Lista de Abreviaturas.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Justificación.....	6
1.3. Objetivos.....	8
1.3.1. Objetivo General .....	8
1.3.2. Objetivos Específicos .....	8
2. METODOLOGÍA.....	9
2.1. Lugar de realización de la práctica dirigida.....	9
2.1.1. Animales de estudio.....	9
2.1.2. Prácticas realizadas.....	10
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
3.1. Proyecto FIDA 0126-16 “Determinación de la prevalencia de resistencia a benzoimidazoles, lactonas macrocíclicas e imidazotiazoles de nematodos gastrointestinales de ovinos de carne de Costa Rica” .....	13
3.2. Proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA: “Disminución de la tasa de parasitosis en ovejas y cabras” .....	20
5. CONCLUSIONES .....	24
6. RECOMENDACIONES.....	25
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	26
6. ANEXOS.....	34

## Índice de Cuadros

Cuadro 1. Porcentajes de reducción, intervalo de confianza y resistencia a los AH en cada finca muestreada.....	15
Cuadro 2. Resultados de las fincas muestreadas para el proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA.....	21
Cuadro 3. Animales resistentes, resilientes y susceptibles.....	21

## Índice de Figuras

Figura 1. Población inicial de larvas.....	17
Figura 2. Población de larvas resistentes a albendazol.....	18
Figura 3. Población de larvas resistentes a ivermectina.....	19
Figura 4. Población de larvas resistentes a levamisol.....	19

## **Lista de Abreviaturas**

AH: antihelmínticos

CC: condición corporal

Clasif: clasificación según resistente o susceptible.

FECRT: reducción del conteo de huevos en heces (fecal egg count reduction test)

HPG: huevos por gramo de heces

IC: intervalo 95% de confianza

NGI: nemátodos gastrointestinales

NR: no se realizó la prueba

PR: porcentaje de reducción



## RESUMEN

Esta práctica dirigida se realizó con el objetivo de conocer y desarrollar capacidades relacionadas con la detección de infecciones parasitarias y la existencia de resistencia antihelmíntica en parásitos gastrointestinales de ovinos en Costa Rica. Se realizaron técnicas laboratoriales de diagnóstico parasitológico tales como McMaster modificado, coprocultivo, microhematocrito e identificación de larvas hasta su género.

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA; así como en 13 fincas dedicadas a la crianza comercial de ovejas, dos de las cuales participaban en el proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA: “Disminución de la tasa de parasitosis en ovejas y cabras” y 11 en el proyecto FIDA 0126-16 titulado “Determinación de la prevalencia de resistencia a benzoimidazoles, lactonas macrocíclicas e imidazotiazoles de nematodos gastrointestinales de ovinos de carne de Costa Rica”.

Se procesaron un total de 1001 McMaster, 497 microhematocritos, 33 coprocultivos y se identificaron 3300 larvas. Para el proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA se detectaron animales fenotípicamente resistentes, resilientes y susceptibles a los nematodos gastrointestinales (NGI). En el caso del proyecto FIDA 0126-16, se encontró un 100% de resistencia al albendazol, 100% a la ivermectina y un 11.1% de resistencia al levamisol.

Estos resultados muestran la importancia de mejorar las destrezas en la realización de las pruebas para la detección parasitaria, con el fin de lograr una correcta identificación del estado parasitológico de los animales, la identificación de larvas y los antihelmínticos a los que son resistentes los parásitos de una finca; así como para la identificación de animales fenotípicamente resistentes y resilientes a los NGI.

## ABSTRACT

A guided practice was carried out with the objective of knowing and developing skills related to the detection of parasitic infections and the existence of anthelmintic resistance in gastrointestinal parasites of sheep in Costa Rica. Parasitological diagnostic laboratory techniques such as modified McMaster, coproculture, microhematocrit and identification of larvae up to the genus were performed.

The practice was carried out in the Parasitology Laboratory of the School of Veterinary Medicine, UNA; as well as in 13 farms dedicated to the commercial breeding of sheep, two of which belonged to the project ARCAL RLA5071 - IAEA: "Disminución de la tasa de parasitosis en ovejas y cabras" and 11 to project FIDA 0126-16: " Determinación de la prevalencia de resistencia a benzoimidazoles, lactonas macrocíclicas e imidazotiazoles de nematodos gastrointestinales de ovinos de carne de Costa Rica".

A total of 1001 McMaster, 497 microhematocrits, 33 coprocultures were processed and 3300 larvae were identified. For the project ARCAL RLA5071 - IAEA, phenotypically resistant, resilient and susceptible sheep to gastrointestinal nematodes (NGI) were detected . In the case of the FIDA project 0126-16, 100% resistance to albendazole, 100% to ivermectin and 11.1% resistance to levamisole was found.

This results show the importance of improving the skills in performing the techniques for parasitic detection, in order to achieve a correct identification of the parasitological state of the animals, the identification of larvae, and the anthelmintic to which the parasites of a farm are resistant; as well as for the identification of phenotypically resistant and resilient animals to gastrointestinal parasites.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Antecedentes

La importancia de la producción ovina en Costa Rica ha aumentado de manera significativa en los últimos años. Según estimaciones de Maroto en el 2007 se calculaba que el hato ovino nacional constaba de 6765 animales (Maroto 2009); mientras que para el 2014 en el VI Censo Nacional Agropecuario se estableció que el mismo estaba conformado por 35 800 animales (INEC 2015). Las provincias donde se ubica la mayor parte de los animales son Alajuela, Guanacaste, Puntarenas y San José (INEC 2015).

Los nematodos gastrointestinales (NGI) son muy comunes en el ganado ovino y son causantes de múltiples problemas de salud y disminución del bienestar animal (FAO 2003). Los NGI se encuentran entre los parásitos internos de mayor importancia en ovinos. Todos estos endoparásitos, normalmente conocidos como gusanos redondos, poseen características anatómicas muy similares y son dependientes del hospedador para completar las últimas etapas larvarias de su ciclo de vida (Roeber et al. 2013a; Bowman 2014).

Dentro de las consecuencias de infecciones por NGI en ovinos se encuentran: diarrea, anemia, pérdida de condición corporal, disminución de la digestibilidad de las proteínas, deficiencias de hierro, atrofia de vellosidades intestinales, disminución en el consumo y capacidad de digestión de los alimentos e incluso la muerte (Linklater y Smith 1993; Pugh y Baird 2012). Estos constituyen una de las principales limitaciones para las producciones de ovinos en pastoreo ya que generan una fuerte carga económica para los productores en América Latina (FAO 2003). Los nematodos de mayor importancia para la producción ovina en general son *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus* spp., *Strongyloides* sp., *Cooperia curticei* y *Oesophagostomum* spp. (Pugh y Baird 2012).

En Costa Rica los NGI que se encuentran con mayor frecuencia son *Haemonchus* spp., *Strongyloides* sp. y *Cooperia* spp. (Maroto 2009). Cada parásito induce una patología específica en el animal; no obstante, la mayoría de las veces lo que se observan son infecciones mixtas (Pugh y Baird 2012).

Para el control de estas afecciones, existen cuatro grupos de antihelmínticos (AH) de amplio espectro, (i) los benzoimidazoles, (ii) imidazotiazoles e hidropirimidinas, (iii) lactonas macrocíclicas y (iv) derivados de amino-acetonitrilo (Coles 2006; Hosking et al. 2010). Este último grupo es el más nuevo de todos, en este se encuentra un fármaco llamado monepantel, que fue lanzado en el 2009 para administración oral (Hosking et al. 2010). De momento, las hidropirimidinas y el monepantel no están disponibles en el país (SENASA 2018).

El uso de los AH ha sido la base para el control de NGI en ovejas por muchos años; sin embargo, su uso indiscriminado ha llevado a la selección de poblaciones resistentes (FAO 2003; Calvete y Uriarte 2013).

La resistencia a AH se define como el aumento significativo de la proporción de individuos en una población de parásitos que son capaces de tolerar un medicamento en niveles que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie (Chandrawathani 2004; Wolstenholme et al. 2004).

El uso indiscriminado de los AH es el principal responsable de la aparición de la resistencia, ya que ésta es el resultado de la selección activa de los alelos de resistencia en los genes encargados de evadir el efecto letal de estos fármacos (Chandrawathani 2004; Wolstenholme et al. 2004; Fleming et al. 2006).

El desarrollo de resistencia a los AH puede suceder por múltiples razones, muchas de las cuales pueden derivarse de errores en el manejo del control parasitario, pero también

existen causas genéticas y ambientales. Prácticas tales como: no rotar de familia de desparasitante, alta frecuencia de desparasitaciones, subdosificación de fármacos por no pesar a los animales antes de medicarlos, mal manejo de rotación de pasturas, no realizar exámenes de heces, uso frecuente de un mismo producto AH, o tratar a todos los animales del hato; causan la aparición de resistencia a AH en una finca. También pueden adquirirse parásitos resistentes de otras fincas si no se tiene un buen manejo de cuarentena antes de introducir animales nuevos al hato (Pugh y Baird 2012; Shalaby 2013).

La resistencia a los AH puede darse por múltiples mecanismos, tales como: (i) un cambio en el sitio blanco molecular, para que el fármaco ya no lo reconozca y por lo tanto no sea eficaz; (ii) un cambio en la distribución en el sitio blanco molecular, para que el fármaco no tenga acceso a éste; (iii) un cambio en el metabolismo del medicamento, para inactivarlo, removerlo o prevenir su activación; o (iv) amplificación de los genes diana, para superar la acción de la droga (Wolstenholme et al. 2004).

El primer reporte que evidenció la ineficacia de un AH fue en 1957, donde se reportó *Haemonchus contortus* resistente a la fenotiazina, seguido de un reporte de resistencia a tiabendazol en 1964 (Drudge et al. 1957; Drudge et al. 1964; Fleming et al. 2006). En América existen reportes de resistencia a AH en Brasil, Argentina, Uruguay, Paraguay, Estados Unidos, México, Cuba, Nicaragua y Costa Rica (Torres et al. 2012).

Este problema se ha agravado al punto que, a inicios de los años ochenta se empezaron a dar reportes de helmintos multirresistentes, los cuales se definen como parásitos que son resistentes a dos o más antihelmínticos (Green et al. 1981; Wolstenholme 2004; Calvete y Uriarte 2013).

Incluso en fármacos nuevos como en monepantel ya se han dado reportes de resistencia en múltiples parásitos tales como *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus*

*colubriformis* y *Haemonchus contortus*, entre otros. Esto a pesar de que el monepantel tiene un mecanismo de acción diferente al resto de los AH de amplio espectro. Aún falta mucho por investigar al respecto, pero se ha visto que la resistencia puede deberse a un cambio en el sitio blanco de acción de la droga y que parásitos como *Haemonchus contortus* son capaces de metabolizar el monepantel (Scott et al. 2013; Raza et al. 2016).

En la actualidad existen múltiples técnicas para la detección de resistencia AH, clasificadas como técnicas *in vivo* e *in vitro*. Entre las pruebas *in vivo*, que son la referencia para el diagnóstico de la resistencia AH, se encuentran las de reducción del conteo de huevos en heces (FECRT) descrita por Coles y colaboradores (1992) y el test de eficacia controlada. Por otra parte, las pruebas *in vitro* incluyen el test de eclosión de huevos, la prueba de desarrollo larval y la de inhibición de migración larval; así como pruebas moleculares que incluyen PCR y RT-PCR (Coles et al. 1992; Cutulle et al. 2001; Coles et al. 2006).

Las técnicas para detección de resistencia *in vivo* son el método de elección para diagnóstico en campo, ya que las pruebas *in vitro*, a pesar de ser más controladas, tienen la desventaja de requerir instalaciones y equipo específicos, mantenimiento de estos, personal altamente capacitado y larvas susceptibles y resistentes de referencia. En cuanto a las técnicas *in vivo*, el test de eficacia controlada compara mediante necropsias el conteo de NGI en el tracto gastrointestinal de animales tratados y no tratados. Este método es bastante confiable; sin embargo, requiere mucho trabajo y es muy costoso. En la FECRT se compara el conteo de huevos en heces previo y posterior al tratamiento. Este es el método más utilizado a nivel mundial, ya que es fácil de realizar, no es costoso, no requiere equipo muy especializado y no requiere el sacrificio de los animales (Coles et al. 1992; Wood et al. 1995; Cutulle et al. 2001; Coles et al. 2006; Peña et al. 2014).

En el 2009 se realizó un estudio en Costa Rica llevado a cabo por Maroto, para determinar la presencia de resistencia en NGI de ovinos en siete fincas del país. En el trabajo se detectó resistencia al albendazol y a la ivermectina por medio de la técnica de FECRT; sin embargo, se dejó por fuera del estudio a la familia de los imidazotiazoles. Los parásitos que presentaban mayor resistencia fueron *Haemonchus* spp., *Strongyloides* sp. y *Trichostrongylus* spp. Además, se realizó una encuesta sobre el manejo pecuario, donde se evidenció que en su mayoría había una frecuencia de desparasitación mayor a tres veces al año y no se pesaban los animales para desparasitarse (Maroto 2009).

Ante la necesidad de información más completa y actualizada respecto a la situación de la resistencia a AH en NGI en el país, surge el proyecto FIDA 0126-16 “Determinación de la prevalencia de resistencia a benzoimidazoles, lactonas macrocíclicas e imidazotiazoles de NGI de ovinos de carne de Costa Rica”; a cargo de la M.Sc Natalia Soto Barrientos, el cual incluye también a la familia de los imidazotiazoles, que no se había considerado en la tesis de Maroto (Maroto 2009), por lo que se espera que brinde un panorama más completo de la situación de resistencia a las tres familias de AH presentes en el país.

Dado el creciente problema de resistencia antihelmíntica a nivel mundial, otras estrategias no químicas han surgido para el control parasitario. Estas incluyen el manejo de pasturas, que reduce al mínimo la exposición de los animales a larvas infectivas; la alternancia entre pequeños y grandes rumiantes; el mejoramiento genético de los animales naturalmente resistentes y mejores prácticas de alimentación para mejorar la nutrición, entre otras (FAO 2003, Pugh y Baird 2012, Kumar et al. 2013).

La selección de animales naturalmente resistentes es, actualmente, la expectativa para el control de las afecciones parasitarias (Kumar et al. 2013). De aquí nace el proyecto

regional ARCAL RLA5071 del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) titulado “Disminución de la tasa de parasitosis en ovejas y cabras” en el cual participan los siguientes países: Argentina, Bolivia, Brasil, Costa Rica, Cuba, El Salvador, México, Paraguay, Perú, República Dominicana, Uruguay y Venezuela.

Este proyecto busca identificar las bases para la correcta discriminación entre animales resistentes, resilientes y susceptibles; luego integrar a los animales resistentes en programas de reproducción intensiva y así heredar estos genes de resistencia a las siguientes generaciones de reproductores. Los animales resistentes son aquellos que pueden suprimir el establecimiento o el consecuente desarrollo de las infecciones parasitarias, mientras que los animales resilientes son aquellos que son capaces de mantener parámetros productivos normales ante un desafío parasitario (Bisset y Morris, 1996).

La selección y cría de animales resistentes sería la estrategia sostenible a largo plazo para aliviar las pérdidas producidas por los parásitos, ya que el recuento de huevos de los parásitos es un rasgo moderadamente heredable y el pastoreo de los animales resistentes conduce a una reducción en el número de larvas infectantes en el pasto (Bisset y Morris, 1996; Aguerre 2018).

## **1.2. Justificación**

Uno de los problemas médicos más significativos en ovinos en pastoreo a nivel mundial, son las afecciones por parásitos internos. Estos son una importante causa de pérdidas económicas en regiones tropicales y subtropicales, ya que llevan a una disminución de la producción, alteraciones reproductivas, altos costos de inversión para tratamientos y aumentos en la morbilidad y la mortalidad de los animales (FAO 2003; Pugh y Baird 2012).



El impacto económico generado por las infecciones con NGI en ovinos ha ido en aumento con el paso de los años, se estima que a nivel mundial se invierten decenas de miles de millones de dólares al año para combatir las parasitosis por helmintos. En el caso de Australia se invierten 436 millones de dólares australianos por año en el control y manejo de las parasitosis en ovinos (Roeber et al. 2013b; Lane et al. 2015).

El control de los NGI desde hace muchos años se ha basado en el uso de AH y por un tiempo esto dio resultados eficaces, maximizando los índices de producción ovina; sin embargo, las malas prácticas de manejo y el uso indiscriminado de éstos, ha llevado la aparición de resistencia a AH, e incluso la aparición de parásitos multirresistentes (Pugh y Baird 2012; Calvete y Uriarte 2013).

El descubrimiento y desarrollo de nuevos desparasitantes ha sido obstaculizado por los altos costos y por la dificultad de conseguir compuestos que eliminen a los NGI y que a su vez sean seguros para los animales; como resultado pocos fármacos han salido al mercado en los últimos años, siendo uno de ellos el monepantel en el 2009 (FAO 2003; Hosking et al. 2010; Elsheikha y Ahmed 2011). El costo de desarrollar un fármaco nuevo para animales de producción se aproxima a los 400 millones de dólares (Abongwa et al. 2017). Debido a esto, es esencial retrasar el desarrollo de resistencia de los AH que se tienen disponibles en este momento, por lo que es necesario llevar a cabo una adecuada detección y monitoreo de su eficacia en las explotaciones ovinas (Calvete y Uriarte 2013).

La industria ovina está en proceso de crecimiento en Costa Rica (INEC 2015) y como se mencionó anteriormente estas producciones pueden verse fuertemente afectadas por las parasitosis. Por esta razón es indispensable que los veterinarios que se dediquen a atender explotaciones ovinas, tengan un amplio conocimiento sobre el manejo, técnicas de detección de NGI resistentes a AH y nuevas tendencias de control a nivel mundial.

El propósito de este trabajo es participar en los proyectos FIDA y ARCAL, con el fin de adquirir conocimientos novedosos sobre la resistencia a AH y su manejo, así como adquirir una mayor destreza en las técnicas que se realizan para su diagnóstico en campo y laboratorio.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Conocer y desarrollar capacidades relacionadas con la detección de infecciones parasitarias y la existencia de resistencia antihelmíntica en parásitos gastrointestinales de ovinos en Costa Rica.

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

1. Practicar y mejorar las destrezas en la realización de técnicas laboratoriales de diagnóstico parasitológico tales como McMaster modificado, coprocultivo, microhematrocrito e identificación de larvas.
2. Aprender técnicas de detección a campo de infecciones parasitarias gastrointestinales y de resistencia a antihelmínticos.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Lugar de realización de la práctica dirigida.

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA; así como en trece fincas con hatos dedicados a la producción comercial de ovinos. El laboratorio cuenta con todas las facilidades necesarias para el procesamiento de muestras de heces; así como la medición de microhematocritos. Además, los proyectos que financiaron la práctica poseen los materiales necesarios para la toma y procesamiento de muestras a campo, así como para el acceso a las fincas.

De las 13 fincas que se muestrearon para la práctica, 11 participan en el proyecto FIDA y dos forman parte del proyecto ARCAL.

#### 2.1.1. Animales de estudio

Se trabajó con animales de la especie ovina, mayores a tres meses que se encontraran en pastoreo o semi-estabulados.

En las fincas donde se realizaron las pruebas de resistencia antihelmíntica (FIDA) se trabajó con un mínimo de 30 animales, que resultaron con al menos 150 huevos por gramo de heces (HPG) en el McMaster modificado. En el caso del proyecto ARCAL, se muestreó la totalidad de animales de la finca que cumplieran con las características mencionadas anteriormente, estos fueron muestreados para la obtención de sangre y heces una vez al mes, durante un periodo de tres meses.

### 2.1.2. Prácticas realizadas

En cada finca que se visitó se participó en la selección de animales, toma de muestras, realización de pruebas de McMaster, cálculo y administración de medicamentos e interpretación de resultados.

En el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA; se participó en la elaboración de materiales para los muestreos en finca (solución hipersaturada de azúcar), microhematocritos, procesamiento de coprocultivos e identificación de larvas. Así como la interpretación de datos obtenidos de los muestreos.

Para ambos proyectos se extrajeron heces directamente del recto de los animales para realizar la prueba de McMaster modificado, utilizando la técnica descrita por Roberts y O'sullivan (1949), en la que se pesaron dos gramos de heces, estos se diluyeron en 28 ml de la solución hipersaturada de azúcar, dando un total de 30 ml. Esta solución se colocó por medio de jeringas de 1 cc en cámaras de McMaster, que miden 1 cm<sup>2</sup> y constan de dos compartimentos, estas cámaras son especiales para realizar el conteo de huevos a través de la cuadrícula bajo el microscopio (Roberts y O'sullivan 1949).

La materia fecal restante de los animales parasitados se transportó al laboratorio para realizar coprocultivos. Para esta técnica se tomó la muestra de heces, se adicionó y mezcló con aserrín y agua destilada, se colocó en un recipiente de vidrio y se mantuvo durante una semana en incubadora a 27°C. Transcurrida la semana en la incubadora, se sacó, se llenó con agua destilada a 30°C y se invirtió sobre un plato de Petri, que también se llenó con agua hasta la mitad y se dejó reposar con el fin de que las larvas migraran hacia el plato de Petri. El coprocultivo permite desarrollar las larvas L3 para su posterior identificación (Roberts y O'sullivan 1949, Coles et al. 1992).

Las larvas de los coprocultivos se identificaron utilizando la guía del Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA (Anexo 1) (Hernandez 2010) y la guía de Rodríguez (2015) (Anexo 2), las cuales toman en cuenta características morfológicas de la extremidad anterior, media y posterior de los diferentes géneros de larvas L3 para la identificación del género.

La especie no se determinó debido a la similitud que existe entre ciertas especies de un mismo género de NGI, la necesidad de matar a los animales para obtener las formas adultas de las larvas, que se pudieran identificar hasta el nivel de especie y la ausencia de métodos moleculares que permitieran diferenciar especies de una forma sencilla y certera.

Para el proyecto FIDA, se determinó la resistencia a los AH por medio de FECRT. Se efectuaron dos giras a cada finca, en la primera se muestrearon los ovinos para obtener muestras de heces y con estas, se realizaron McMaster modificados para elegir a los animales que calificaran para el estudio. Estos se dividieron en tres grupos de al menos diez animales, correspondientes a cada una de las familias de AH presentes en el país, se pesaron y se trataron con albendazol, levamisol o ivermectina, y se marcaron con un aerosol de un color correspondiente a cada grupo de AH.

Las heces obtenidas de estos animales antes del tratamiento fueron llevadas, en hieleras a una temperatura de 4°C, al Laboratorio de Parasitología para montar un coprocultivo, que determinaría la población parasitaria presente en la explotación.

En la segunda visita se realizaron nuevamente McMaster modificados a los animales que se habían seleccionado para el estudio. Las heces de cada uno de los grupos de tratamiento se llevaron al laboratorio para realizar coprocultivos, y determinar la población de larvas que había sobrevivido a la desparasitación, las cuales luego ovopositaron y de estos huevos se obtienen las larvas que se identifican al microscopio.

Los datos obtenidos de los McMaster y los coprocultivos luego de la primera y la segunda gira se ingresaron en una versión modificada del programa RESO de Wursthorn y Martin (1990), para determinar la resistencia hacia los AH en cada una de las fincas, el porcentaje de reducción de cada AH y los géneros de las larvas resistentes. El programa RESO, determina la resistencia calculando la media aritmética, el porcentaje de reducción de HPG y el intervalo de 95% de confianza (Wursthorn y Martin 1990).

Para que un grupo sea resistente es necesario que: (i) el porcentaje de reducción de HPG sea menor al 95% y (ii) el intervalo de confianza 95% del porcentaje de reducción sea menor al 90%. Si solamente se cumple uno de los dos criterios se considerará como sospechoso de resistencia, si no se cumple ninguno se considera susceptible (Coles et al. 1992).

Por otro lado, las giras del proyecto ARCAL consistieron en tres visitas a cada finca, una por mes, en las cuales se obtuvo datos de HPG, FAMACHA, condición corporal (CC) y hematocrito; para así montar la base de datos que permita la correcta clasificación de los animales entre resistentes, resilientes y susceptibles. A las muestras de heces se les realizó la prueba de McMaster modificado. La toma de muestras de sangre se llevó a cabo mediante punción yugular con una aguja calibre 20 de 4 cm de largo en un tubo con anticoagulante EDTA (Pugh y Baird 2012).

Para la selección de resistentes se tomaron los animales que mantuvieron HPG menores a 1000 durante las tres visitas (Torres et al. 2008). Los resilientes fueron animales que mantuvieron conteos mayores a 1000 HPG, pero con hematocrito  $\geq 19$ , CC  $\geq 2.5$  y FAMACHA  $\leq 3$ , a lo largo de estas tres visitas (Kaplan et al 2004; Medina et al. 2015). El resto de los animales fueron considerados susceptibles.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la práctica dirigida, entre los dos proyectos, se visitaron 13 fincas, procesando un total de 1001 McMaster, 497 microhematocritos, 33 coprocultivos y se identificó el género de 3300 larvas.

Este trabajo fue diseñado para promover la práctica y aumentar las destrezas en la realización de pruebas laboratoriales utilizadas en el diagnóstico parasitológico en ovinos. Luego de la práctica dirigida se ha visto la importancia de la repetición para perfeccionar las técnicas y disminuir el tiempo necesario en la elaboración de las pruebas de McMaster modificado, coprocultivo, microhematocrito e identificación de larvas.

Las técnicas utilizadas requieren gran disponibilidad de tiempo, paciencia, insumos, asesoría adecuada y personal entrenado para realizarse; sin embargo, a pesar del tiempo que se invierte en ellas, son esenciales para un correcto diagnóstico de parasitosis, del estado de salud de los animales y de los géneros que afectan cada explotación.

#### **3.1. Proyecto FIDA 0126-16 “Determinación de la prevalencia de resistencia a benzoimidazoles, lactonas macrocíclicas e imidazotiazoles de nematodos gastrointestinales de ovinos de carne de Costa Rica”**

En el periodo de la práctica se visitaron 11 fincas que eran parte de este proyecto. De estas 11 fincas, en dos no fue posible realizar la prueba de resistencia, ya que el número de animales parasitados no fue suficiente para probar ni siquiera uno de los desparasitantes, por lo que se presentan los resultados de las nueve fincas restantes. De estas nueve fincas, en dos no fue posible muestrear ivermectina pues la cantidad de animales infectados no permitió muestrear los tres desparasitantes en una sola visita, hizo falta una visita que se programó para después de que esta práctica terminara.

En total, para las fincas de este proyecto se procesaron 520 McMaster, 33 coprocultivos y 3300 larvas fueron identificadas hasta el género. El menor HPG fue igual a cero, el mayor fue de 14900 y un 80.9% de los McMaster que se realizaron en la primera visita presentaban conteos menores a 1000 HPG.

La adecuada detección de animales parasitados es de suma importancia, ya que permite que los que no precisan de una desparasitación al tener un HPG menor a 1000 no sean tratados (Torres et al. 2008).

Al ingresar los datos en el programa RESO, con base en los porcentajes de reducción y el intervalo de confianza 95% (IC), se determinó que de las fincas en que se trató a los animales con albendazol, un 100% presentó resistencia a este AH, el 100% de las que se muestrearon para ivermectina fueron resistentes y un 11.1% presentó resistencia al levamisol lo que se observa en el Cuadro 1.



Cuadro 1. Porcentajes de reducción, intervalo de confianza y resistencia a los AH en cada finca muestreada.

Finca	Albendazol			Ivermectina			Levamisol		
	PR	IC	Clasif	PR	IC	Clasif	PR	IC	Clasif
1	74.2	50.8- 86.5	Resistente	65	17.0- 85.2	Resistente	89.1	62.6- 96.8	Resistente
2	11.5	0.0- 47.5	Resistente	58.4	3.2- 82.1	Resistente	99.9	99.5- 100	Susceptible
3	41.3	0.0- 80.1	Resistente	31.2	0.0- 76.4	Resistente	99.4	93.8- 99.9	Susceptible
4	16	0.0- 66.4	Resistente	0	0.0- 0.0	Resistente	99.9	99.1- 100	Susceptible
5	0	0.0- 0.0	Resistente	0	0.0- 0.0	Resistente	99.6	96.1- 100	Susceptible
6	24.5	0.0- 52.4	Resistente	24.9	0.0- 57.4	Resistente	100	100- 100	Susceptible
7	58.3	0.0- 90.7	Resistente	NR	NR	NR	100	100- 100	Susceptible
8	67.3	31.3- 84.5	Resistente	75.5	61.6- 84.4	Resistente	99.3	90.7- 99.9	Susceptible
9	45.7	0.0- 71.3	Resistente	NR	NR	NR	100	100- 100	Susceptible

PR: porcentaje de reducción. IC: intervalo de confianza 95%, Clasif: clasificación según resistente o susceptible. NR: no se realizó la prueba.

En un estudio realizado por Maroto en el 2009 en siete fincas de Costa Rica, el cual pretendía determinar el estado de resistencia únicamente a benzimidazoles y lactonas macrocíclicas de los NGI, se encontró que en ese momento en el país había un 86.71% de resistencia al albendazol y un 71.43% de resistencia a la ivermectina en los NGI de ovejas. Comparando los resultados que obtuvo Maroto (2009) con el estudio actual en el que se halló 100% de resistencia a ambos productos en las fincas tratadas indica un alarmante aumento de la resistencia a estos AH muestreados en el lapso de diez años.

En esta práctica se detecta el primer caso de resistencia a levamisol del país, ya que la familia de los imidazotiazoles no había sido muestreada en estudios anteriores y con este hallazgo también se reporta el primer caso de una finca con multiresistencia a las tres familias de AH disponibles en Costa Rica. En América ya se han dado reportes de resistencia a levamisol en Brasil, Argentina, Uruguay, Paraguay, Estados Unidos, México, Cuba y Nicaragua (Torres et al. 2012).

Los resultados de los porcentajes de reducción muestran una realidad alarmante, como es el caso de la Finca 5 en la cual hay un cero por ciento de reducción en el HPG luego de las aplicaciones de albendazol e ivermectina, esto significa que aplicar dichos fármacos en la finca mencionada no tiene beneficio alguno en disminuir la población parasitaria y por lo tanto no puede recomendarse su uso al productor ni siquiera para realizar rotación de productos.

Se determinó en la práctica que las larvas presentes en la población inicial son: *Haemonchus* spp. presente en un 100% (9/9) de las fincas, *Trichostrongylus* spp. en un 88.8% (8/9), *Oesophagostomum* spp. en 11.1% (1/9), *Cooperia* spp. en 22.2% (2/9) y *Chabertia* spp en un 22.2% de las fincas (2/9) (Figura 1).

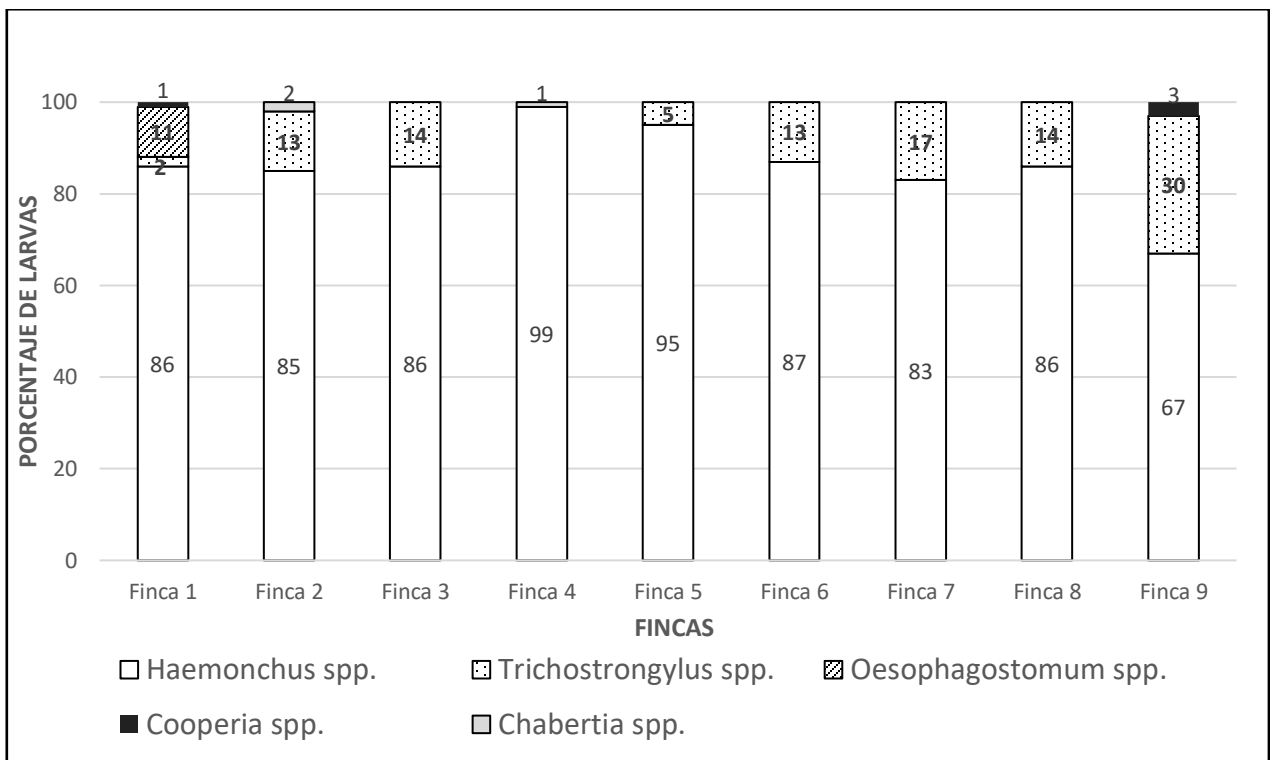


Figura1. Población inicial de larvas.

Las poblaciones iniciales de larvas presentes en esta práctica son similares a las reportadas por Maroto (2009), quien reportó *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Strongyloides* sp., *Oesophagostomum* spp., y *Chabertia* sp., a excepción de que en esta práctica no se menciona *Strongyloides* sp. (Maroto 2009). Esto se debe a que, para los conteos e identificación de larvas de las fincas del proyecto FIDA, solo se tomaron en cuenta los NGI del orden Strongylida y el género *Strongyloides* sp. no se encuentra dentro de este grupo (Bowman 2014). Se observa también que la larva de mayor prevalencia es *Haemonchus* spp. lo cual concuerda con lo reportado por Maroto (2009); sin embargo, se observa un aumento en la prevalencia de la población de *Trichostrongylus* spp.

Las larvas que presentan resistencia en las fincas muestreadas al albendazol son las pertenecientes al género *Haemonchus* spp. que se encuentra en una proporción promedio de 95.2% y *Trichostrongylus* spp. en 4.8% (Figura 2). Las larvas resistentes a ivermectina son

*Haemonchus* spp. en una proporción de 94.8%, *Trichostrongylus* spp. en 5% y *Chabertia* spp. en 0.2% (Figura 3). En el caso de levamisol, *Haemonchus* spp. en un 93.5% y *Trichostrongylus* spp. en 6.5% fueron resistentes (Figura 4).

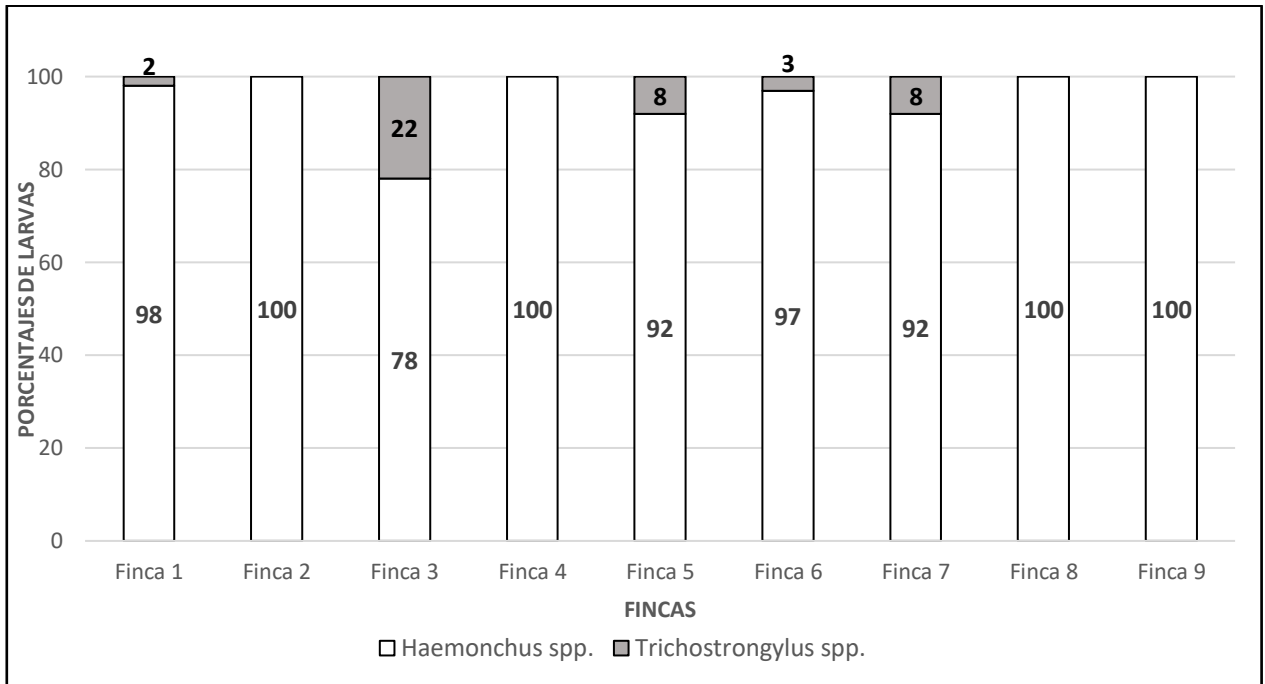


Figura2. Población de larvas resistentes a albendazol.

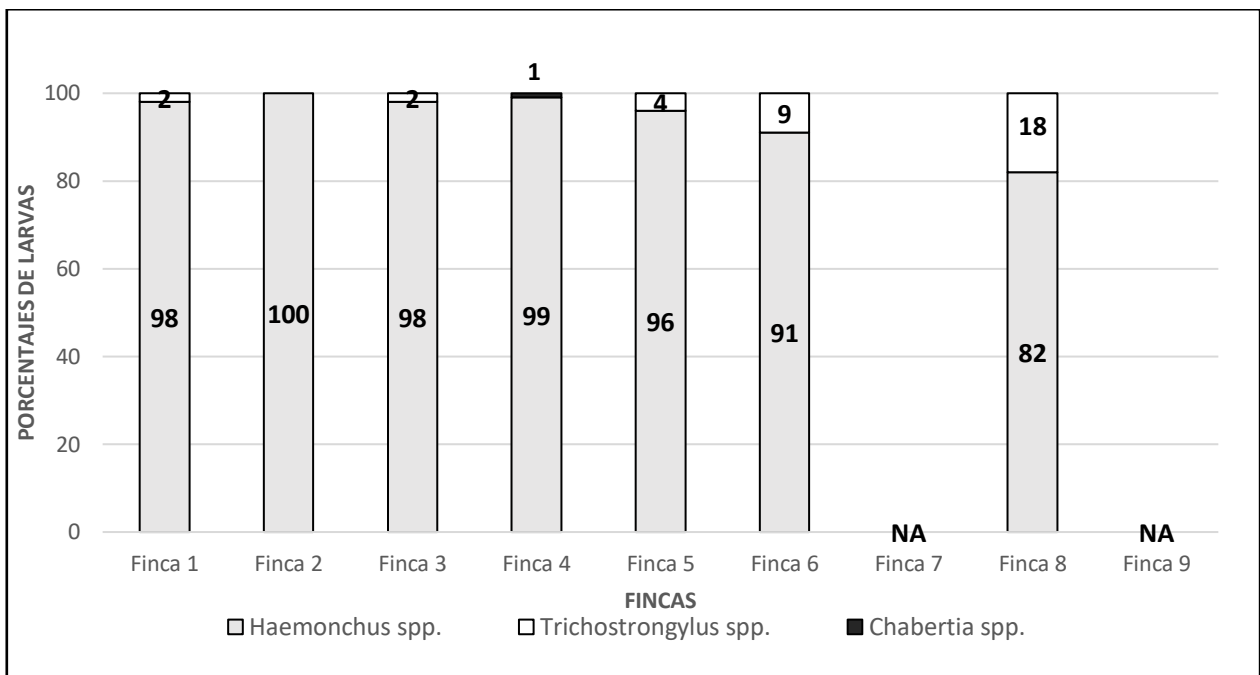


Figura3. Población de larvas resistentes a ivermectina.

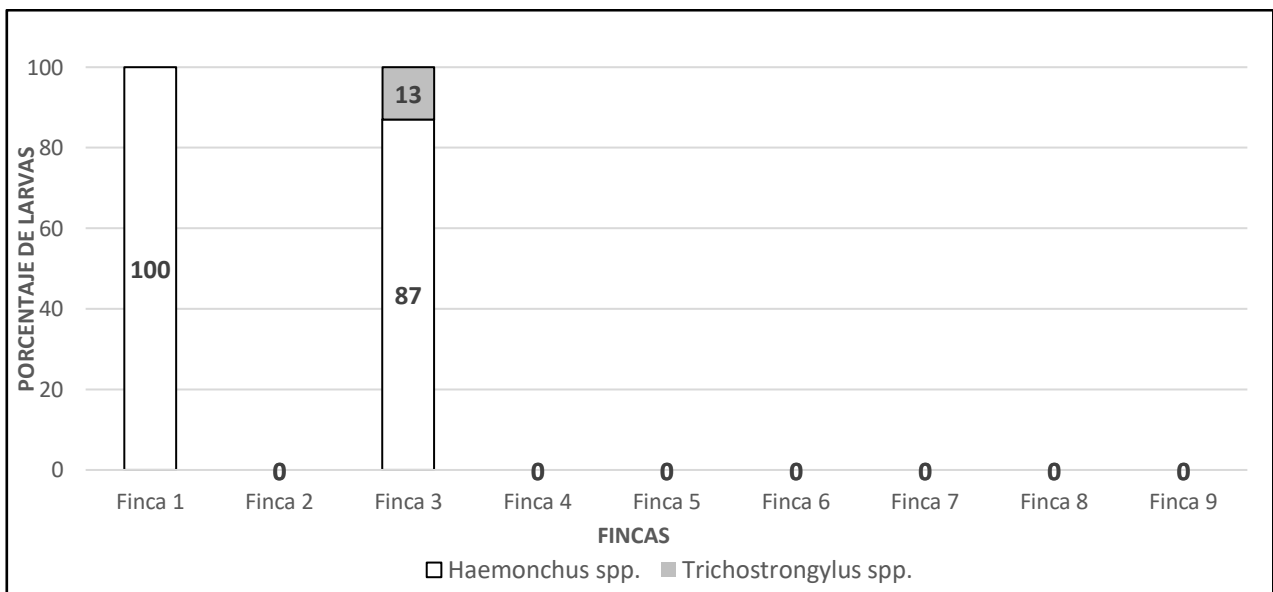


Figura4. Población de larvas resistentes a levamisol.

El presente estudio encontró diferentes poblaciones de larvas resistentes tanto al albendazol como a la ivermectina, en comparación con las reportadas por Maroto 2009. Ya que Maroto aparte de *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp., que concuerda con el

estudio actual, encontró *Cooperia* spp. resistente a albendazol. En ambos estudios existe una mayor proporción de *Haemonchus* spp. resistente a este AH. En el caso de ivermectina en ambos estudios se encontró *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp.; sin embargo, en este estudio se da el primer reporte de *Chabertia* spp. resistente a la ivermectina en el país. Se observó un aumento en la proporción de *Haemonchus* spp. resistente a este AH del 2009 al estudio actual.

Las larvas resistentes a levamisol en la Finca 1 se identificaron como *Haemonchus* spp. En el caso de la Finca 3, la población era susceptible a levamisol, sin embargo, hubo crecimiento de larvas en el coprocultivo, esto puede deberse a que el porcentaje de reducción fue de 99.4%, por lo que ese 0.6% de larvas restantes eclosionó durante el cultivo en larvas de *Haemonchus* spp., y *Trichostrongylus* spp. Ya existen reportes previos en América de *Haemonchus* spp. y de *Trichostrongylus* spp. resistentes al levamisol (Torres et al. 2012).

### **3.2. Proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA: “Disminución de la tasa de parasitosis en ovejas y cabras”**

Para este proyecto se muestrearon dos fincas, la población total de animales a muestrear para este proyecto era de 175 animales; sin embargo, a lo largo de los muestreos tuvieron que ser eliminados 38 por la falta de disponibilidad de muestras de heces o la ausencia del animal. En conjunto, en las dos fincas y a lo largo de los tres muestreos se procesaron un total de 481 McMaster y 497 microhematocritos, los cuales se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de las fincas muestreadas para el proyecto ARCAL RLA5071 – OIEA.

	<b>Finca A</b>	<b>Finca B</b>	<b>Total</b>
<b>MCMASTERS MODIFICADOS PROCESADOS</b>	323	158	481
<b>MICROHEMATOCRITOS PROCESADOS</b>	337	160	497
<b>TOTAL INICIAL DE ANIMALES PARTICIPANTES</b>	121	54	175
<b>TOTAL DE ANIMALES QUE PARTICIPARON EN LOS 3 MUESTREOS</b>	87	50	137

De los McMaster realizados el menor HPG obtenido fue de 0, el mayor 49100 y un total de 65.9 % de los animales obtuvo un HPG menor a 1000. De los microhematocritos realizados, el menor valor obtenido fue de siete y el mayor de 43.

Los 137 animales que participaron en los tres conteos se clasificaron como resistentes, resilientes y susceptibles. Resultaron resistentes 56 animales los cuales mantuvieron HPG menores a 1000 durante las tres visitas. Se encontraron en total 11 resilientes que son aquellos con conteos mayores a 1000 HPG, con hematocrito  $\geq 19$ , CC  $\geq 2.5$  y FAMACHA  $\leq 3$ , a lo largo de los tres conteos. Los otros 70 animales fueron considerados susceptibles (Cuadro 3).

Cuadro 3. Animales resistentes, resilientes y susceptibles.

	<b>FINCA A</b>	<b>FINCA B</b>	<b>TOTAL</b>
<b>TOTAL DE ANIMALES QUE PARTICIPARON EN LOS 3 MUESTREOS</b>	87	50	137
<b>ANIMALES RESISTENTES</b>	45	11	56
<b>ANIMALES RESILIENTES</b>	4	7	11
<b>ANIMALES SUSCEPTIBLES</b>	38	32	70

Los resultados de este proyecto lograron identificar animales en cada finca que pueden ser clasificados fenotípicamente como resistentes, en base a su conteo de HPG y hematocrito durante las tres visitas realizadas. Esta información es útil para los productores ya que al encontrarnos en un momento de crisis a nivel nacional y mundial con la situación de NGI resistentes a AH, tener conocimiento sobre animales fenotípicamente resistentes a los NGI, les permite cruzar estos animales para crear una primera generación filial o F1 que presente una mayor resistencia a los parásitos y así disminuir la necesidad del uso de AH en el futuro. Estos cruces de animales fenotípicamente resistentes para obtener una F1 con mayor resistencia a los NGI se han realizado con éxito en otros países (Aguerre 2018), donde se reporta que la selección de machos resistentes a NGI genera una mejora en la resistencia en las hembras de su F1. El paso a seguir ahora en el proyecto ARCAL, es buscar en el genotipo qué genes tienen en común estos animales fenotípicamente resistentes, ya en Europa, Asia y América del Sur se han realizado estudios al respecto (Periasamy et al. 2014).

Según los resultados obtenidos en ambas fincas, un 80.9% de la población del proyecto FIDA y un 65.9% del ARCAL presentaron conteos de HPG menores a 1000 y por lo tanto no precisan ser desparasitados, estos animales representan más de la mitad de la población. Conocer cuáles son los animales parasitados, que géneros están presentes en la finca y a cuáles AH son susceptibles, permite una desparasitación adecuada, que evite el uso excesivo e incorrecto de productos y así la aparición o el aumento de la resistencia a AH.

Es importante recalcar el hecho de que el número de fincas muestreadas en esta práctica dirigida no es una cantidad significativa, por lo que los resultados obtenidos no reflejan una realidad nacional. Para tener resultados que realmente tengan un peso estadístico



es necesario esperar a que concluyan los proyectos ARCAL RLA-5071 y FIDA 0126-16, y que estos presenten sus resultados.

## 5. CONCLUSIONES

1.-En este trabajo se ha probado la importancia de las destrezas en la realización de métodos de detección parasitaria, tanto en laboratorio como a campo y su continua práctica, para lograr una correcta identificación del estado de infección parasitaria de los animales, la identificación de los parásitos que afectan cada finca y de parásitos resistentes a los AH; así como para la identificación de animales fenotípicamente resistentes y resilientes a los NGI.

2.- Las técnicas de detección laboratoriales y a campo permitieron en el caso del proyecto FIDA, detectar un aumento en la resistencia de los NGI hacia la ivermectina y el albendazol y la aparición de resistencia al levamisol; y con esto la presencia de fincas multirresistentes a las tres familias de AH disponibles en el país. Se logró identificar animales fenotípicamente resilientes en las fincas del proyecto ARCAL; así como individuos resistentes, con los cuales realizar un posterior estudio genético. Los resultados encontrados en este trabajo indican que al menos en las fincas muestreadas, hay un serio problema de resistencia a los AH, por lo que se hace necesario que los veterinarios se informen en el tema para ser capaces de realizar una correcta aplicación de técnicas de diagnóstico parasitológico, así como para asesorar de manera adecuada a los productores.

## **6. RECOMENDACIONES**

Realizar esquemas de tratamiento antiparasitario con asesoramiento de médicos veterinarios entrenados, que puedan ayudar al productor a escoger específicamente cuáles animales desparasitar, en qué etapas de vida y con qué productos.

Entrenar a los productores en la correcta realización de FAMACHA, CC y el uso de exámenes de heces, así como en la rotación de AH y a aplicarlos según el peso de cada animal para evitar la aparición de resistencia a AH.

Realizar pruebas de resistencia a AH en cada finca, para saber exactamente el estado actual de esa finca, cuáles AH tienen resistencia y qué porcentaje de reducción tiene cada uno.

Identificar hembras y machos fenotípicamente resistentes a NGI en cada finca para crear una F1 con mayor resistencia natural y de esta forma reducir la necesidad del uso de AH.

Recomendar a cada productor la utilización de métodos alternativos al los AH como opciones de control parasitario, para intentar disminuir el uso y la resistencia de estos.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abongwa M, Martin R, Robertson A. 2017. A brief review on the mode of action of antinematodal drugs. *Acta Veterinaria-Beograd* [Internet]. [citado el 2018 May 29]; 67 (2): 137-152. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5798647/>. doi: 10.1515/acve-2017-0013
- Aguerre S, Jacquet P, Brodier H, Bournazel JP, Grisez C, Prévot F, Michot L, Fidelle F, Astruc JM, Moreno CR. 2018. Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistantewes on farms. *Veterinary Parasitology* [Internet]. [citado el 2019 June 12]; 256 (2018): 16–23. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0304401718301432?token=5F9F38F6F6FA81DD6180FA97EA08231C342985E30F884C001CBF2F9D93F550B0D3AFF8845F5507E8492368A24E2B6129>
- Bisset SA, Morris CA. 1996. Feasibility and implications of breeding sheep for resilience to nematode challenge. *International Journal for Parasitology* [Internet]. [citado el 2019 May 2]; 26(8-9): 857–868. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/14284280\\_Feasibility\\_and\\_Implications\\_of\\_Breeding\\_Sheep\\_for\\_Resilience\\_to\\_Nematode\\_Challenge](https://www.researchgate.net/publication/14284280_Feasibility_and_Implications_of_Breeding_Sheep_for_Resilience_to_Nematode_Challenge)
- Bowman D. 2014. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 10. ed. Missouri: Elsevier. 496 p.
- Calvete C, Uriarte J. 2013. Improving the detection of antihelmintic resistance: Evaluation of fecal egg count reduction test procedures suitable for farm routines. *Veterinary*

- Parasitology [Internet]. [citado el 2018 May 18]; 196 (3-4): 438-452. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401713001398?via%3Dihub>  
b. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.02.027
- Chandrawathani P. 2004. Problems in the control of nematode parasites of small ruminants in Malaysia: resistance to anthelmintics and the biological control alternative. Tesis de Doctorado. Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas. Uppsala, Suecia
- Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. 1992. Word 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 [Internet]. [citado el 2018 May 15]; 44 (1-2): 35 – 44. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030440179290141U?via%3Dihub>  
. doi: 10.1016/0304-4017(92)90141-U
- Coles G, Jackson F, Pomroy W, Prichard R, von Samson-Himmelstjerna G, Silvestre A, Taylor M, Vercruyse J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology [Internet]. [citado el 2018 May 18]; 136 (3-4): 167–185. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401705005649?via%3Dihub>  
b. doi:10.1016/j.vetpar.2005.11.019
- Cutulle C, Eddi C, Caracostantogolo J, Castaño R, Schapiro J. 2001. Métodos in Vitro para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica. Vet. Arg [Internet]. [citado el 2018 oct 11] XVI (157): 514-521. Disponible en:  
<http://helmino.inta.gob.ar/pdf%20Resistencia/METODOS%20IN%20VITRO%20RESISTENCIA%20ANTIHELMINTICA.PDF>

- Drudge J, Szanto J, Wyant Z, Elam G. 1964. Field studies on parasite control in sheep: comparison of thia-bendazole, ruelene, and phenothiazine. *Am J Vet Res.* 25 (108): 1513–1518.
- Drudge J, Leland S, Wyant Z. 1957. Strain variation in the response of sheep nematodes to the action of phenothiazine. II. Studies on pure infections of *Haemonchus contortus*. *Am J Vet Res.* 18 (67): 317-325.
- Elsheikha H, Ahmed N. 2011. *Essentials of veterinary parasitology*. United Kingdom: Caister Academic Press. 232 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2003. Estudio FAO producción y sanidad animal: resistencia a los antiparasitarios, estado actual con énfasis en América Latina. Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 51 p.
- Fleming SA, Craig T, Kaplan RM, Miller JE, Navarre C, Rings M. 2006. Anthelmintic resistance of gastrointestinal parasites in small ruminants. *J. Vet. Intern. Med* [Internet]. [citado el 2018 Jun 10]; 20 (2):435-444. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02881.x> doi: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02881.x
- Green P, Forsyth B, Rowan K, Payne G. 1981. The isolation of a field strain of *Haemonchus contortus* in Queensland showing multiple anthelmintic resistance. *Aust Vet J* [Internet]. [citado el 2018 Aug 1]; 57 (2): 79-84. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-0813.1981.tb00451.x> doi: 10.1111/j.1751-0813.1981.tb00451.x
- Hernandez G. 2010. *Técnicas parasitológicas*. Costa Rica: Universidad Nacional. 16 p.

- Hosking B, Kaminsky R, Sager H, Rolfe P, Seewald W. 2010. A pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitol. Res* [Internet]. [citado el 2018 Aug 1]; 106 (2): 529–532. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19795134> doi: 10.1007/s00436-009-1636-1
- INEC. 2015. VI Censo Nacional Agropecuario: resultados generales. Costa Rica: Instituto Nacional de Estadística y Censos. 145 p.
- Kaplan KM, Burke JM, Terrill TH, Miller JE, Getz WR, Mobini S, Valencia E, Williams MJ, Williamson LH, Larsen M, Vatta AF. 2004. Validation of the FAMACHA® eye color chart for detecting clinical anemia on sheep and goat farms in the southern United States. *Vet Parasitol* [Internet]. [citado el 2019 May 30]; 123 (1-2):105-120. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401704002596?via%3Dihub> <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.06.005>
- Kumar N, Rao T, Varghese A, Rathor V. 2013. Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* [Internet]. [citado el 2018 Nov 14]; 37(2): 151–157. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3793100/>. doi: 10.1007/s12639-012-0215-z
- Lane J, Jubb T, Shephard R, Webb-Ware J, Fordyce G. 2015. Priority list of endemic diseases for the red meat industries. [Internet]. Sydney: Meat & Livestock Australia Limited [citado el 2018 Jul 13]. Disponible en: <https://www.mla.com.au/research-and-development/search-rd-reports/final-report-details/Animal-Health-and-Biosecurity/Priority-list-of-endemic-diseases-for-the-red-meat-industries/2895#>

- Linklater K, Smith M. 1993. Diseases and disorders of the sheep and goat. London: Mosby-Wolfe. 256 p.
- Maroto R. 2009. Evaluación de la resistencia antihelmíntica de nematodos gastrointestinales en ovinos de Costa Rica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, C.R.
- Medina P, Ojeda N, Reyes ME, Cámara R, Torres JFJ. 2015. Evaluation of a targeted selective treatment scheme to control gastrointestinal nematodes of hair sheep under hot humid tropical conditions. *Small Rumin. Res* [Internet]. [citado el 2019 May 10]; 127: 86-91. Disponible en: <https://www-sciencedirect-com.una.idm.oclc.org/science/article/pii/S0921448815001030>  
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.02.021>
- Peña M, Thamsborg S, Demeler J, Enemark H. 2014. Field efficacy of four anthelmintics and confirmation of drug-resistant nematodes by controlled efficacy test and pyrosequencing on a sheep and goat farm in Denmark. *Veterinary Parasitology* [Internet]. [citado el 2018 Jun 16]; 206 (3-4): 208–215. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714005445?via%3Dihub>  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.10.017>
- Periasamy K, Pichler R, Poli M, Cristel S, Cetrá B, Medus D, Basar M, 6 Thiruvankadan AK, Ramasamy S, Ellahi M, Mohammed F, Teneva A, Shamsuddin M, Podesta M, Diallo A. 2014. Candidate gene approach for parasite resistance in sheep—variation in immune pathway genes and association with fecal egg count. *PLoS One* [Internet]. [citado el 2019 Jun 12]; 9(2): e88337. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3922807/>  
doi: 10.1371/journal.pone.0088337
- Pugh D, Baird A. 2012. Sheep and goat medicine. 2 ed. Missouri: Elsevier. 621 p.



- Raza A, Lamb J, Chambers M, Hunt P, Kotze A. 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* [Internet]. [citado el 2018 Aug 1]; 220: 77–82. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716300541?via%3Dihub>. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.02.031>
- Roberts F, O'sullivan P. 1949. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Res* [Internet]. [citado el 2018 Aug 4]; 1 (1):90-103. Disponible en: <http://www.publish.csiro.au/AR/ExportCitation/AR9500099> doi: 10.1071/AR9500099
- Rodríguez R. 2015. Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. 1 ed. Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán. 494 p.
- Roeber F, Jex A, Gasser R. 2013a. Advances in the diagnosis of key gastrointestinal nematode infections of livestock, with an emphasis on small ruminants. *Biotechnology Advances* [Internet]. [citado el 2018 Aug 3]; 31 (8): 1135–1152. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.008>. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.008
- Roeber F, Jex A, Gasser R. 2013b. Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance - an Australian perspective. *Parasit Vectors* [Internet]. [citado el 2018 Aug 3]; 6:153. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975013000104?via%3Dihub> . <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.008>

- Scott I, Pomroy W, Kenyon P, Smith G, Adlington B, Moss A. 2013. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Parasitol* [Internet]. [citado el 2018 Aug 1]; 198 (1-2): 166–171. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.037>. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.07.037.
- SENASA [Internet]. 2018. Dirección de medicamentos veterinarios: Centro de consulta de MediVet. Costa Rica: SENASA; [citado el 2018 Aug 10]. Disponible en: <http://www.senasa.go.cr/medivet/inicio.aspx>.
- Shalaby H. 2013. Anthelmintics Resistance; How to Overcome it?. *Iran J Parasitol* [Internet]. [citado el 2018 Aug 5]; 8 (1): 18–32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3655236/>.
- Torres F, Cámara R, Aguilar A, Canul H, Pérez M. 2008. Estrategias de desparasitación selectiva dirigida. *Avances en el control de la parasitosis gastrointestinal de ovinos en el trópico*. Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán. 13 p
- Torres J, Mendoza P, Aguilar A, Cuellar J. 2012. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology* [Internet]. [citado el 2018 Jun 18]; 189 (1): 89– 96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712001616?via%3Dihub>. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.037>
- Wolstenholme A, Fairweather I, Prichard R, von Samson-Himmelstjerna G, Sangster N. 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends Parasitol* [Internet]. [citado el 2018 Jun 22]; 20(10): 469–476. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471492204002016> <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.07.010>

Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB, Jr, Pankavich JA, Reinecke RK, Slocombe O, Taylor SM, Vercruyse J. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet Parasitol* [Internet]. [citado el 2018 Oct 18]; 58 (3):181–213. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304401795008062?via%3Dihub>.

[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)

Wursthorn L, Martin P. 1990. 'Reso' FECRT analysis program version 2.0. Parkville: CSIRO, Animal Health Research Laboratory.

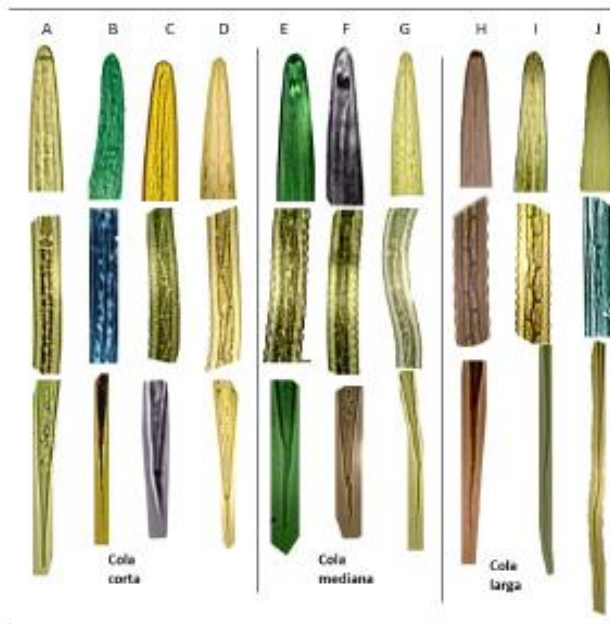
## 6. ANEXOS

**Anexo.1** Guía de identificación de larvas del Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Características de larvas de 3º est. (o L. inf.) de nematodos (rumiantes)

NERO	Tipo de cauda	comp. total	Forma de Cauda	Reg. ant. de algunas particularidades
Trichostrongylus sp	corta	± 650 μ		
Ostertagia sp	corta	± 840 μ		*
Bunostomum sp	media	± 600 μ		Dilatacion de esófago en la parte distal. Coram se ben com Lugol
Haemonchus sp	media	± 720 μ		
Cooperia sp	media	± 800 μ		2 cuerpos refringentes en la region anterior
Oesophagostomum	larga	760 μ a 1100 μ		cuticula rugosa. celulas intestinales poligonales 
Chabertia sp	larga	724 μ a 890 μ		celulas intestinales rectangulares *
Nematodi-	larga	920 μ a 1130 μ		So e encontrado em cultura de mais de 10 dias <span style="float: right;">Mecist</span>
Strongyloides sp		± 580 μ		Sem bainha Cauda bifida

**Anexo.2** Guía de identificación de larvas de Rodríguez 2015.



**Figura 3.24.** Características morfológicas de la extremidad anterior, media y posterior de los diferentes géneros de larvas (L<sub>3</sub>) de nematodos gastrointestinales de rumiantes. A) *Strongylus* spp., B) *Bunostomum* spp., C) *Trichostrongylus* spp., D) *Teladorsagia* spp., E) *Cooperia* spp., F) *Mecistocirrus digitatus*, G) *Haemonchus* spp., H) *Chabertia ovina*, I) *Oesophagostomum* spp., J) *Nematodirus* spp.