

# UNIDADES DE PRODUCCIÓN BOVINA CON NEMATODOS GASTROINTESTINALES RESISTENTES AL ALBENDAZOL (BENZIMIDAZOLES) EN MÉXICO

## Bovine Farms With Gastrointestinal Nematodes Resistant to Albendazole (Benzimidazoles) in Mexico

Ricardo Arnaud Ochoa<sup>1</sup> y Miguel Ángel Alonso-Díaz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Km. 5.5 Carretera Federal Tlapacoyan-Martínez de la Torre, C.P. 93600, Martínez de la Torre, Veracruz, México. \* Autor correspondiente. Tel.: + 52 232 3243941; Fax: + 52 232 3243943  
E-mail address: alonsodm@unam.mx; alonsodma@hotmail.com

### RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron: i) diagnosticar unidades de producción bovina (UPB) con aislados de nematodos gastrointestinales (NGI) resistentes al albendazol (benzimidazoles), ii) conocer el uso de los antihelmínticos en las UPB e iii) identificar el género de los NGI resistentes. Se evaluaron siete UPB en la zona centro de Veracruz, México y en cada una se utilizaron becerros pre-destete con una edad y peso aproximado de 3 a 8 meses y de 50 a 150 kg de peso vivo (PV), respectivamente. Para detectar la presencia de NGI resistentes al albendazol se utilizó la técnica de reducción de huevos en heces. La cuantificación de huevos por gramo de heces se realizó mediante la técnica de McMaster modificada. Los animales se distribuyeron en dos grupos experimentales (n=15) con cargas parasitarias similares: 1) grupo testigo, 2) grupo tratado con un benzimidazol (5,0 mg de albendazol por kg de PV). A los catorce días postratamiento se tomó otra muestra de heces para determinar la carga de NGI y realizar un coprocultivo para la identificación de géneros de NGI. Se realizó una entrevista para obtener información sobre posibles factores de riesgo asociados a la resistencia. La prevalencia de unidades de producción con NGI resistentes al albendazol fue de 71,43% (5/7). No se identificaron factores de riesgo asociados a la resistencia de los NGI ( $P>0,05$ ). *Haemonchus* spp fue el principal género de NGI identificado en todos los casos de resistencia. Se concluye que las UPB evaluadas en la zona centro del estado de Veracruz tiene una elevada presen-

cia de NGI resistentes al albendazol. Se sugiere implementar medidas de bioseguridad en las UPB para evitar la difusión de aislados de NGI resistentes así como implementar buenas prácticas en el uso de los antihelmínticos.

**Palabras clave:** Bovinos, nematodos gastrointestinales, benzimidazoles, resistencia antihelmíntica.

### ABSTRACT

The objectives of this study were: i) to diagnostic cattle farms (CF) with gastrointestinal nematodes (GIN) resistant to albendazole, ii) to know the use of anthelmintics in the CF and iii) to identify the genus of GIN resistant. Seven CF in the central region of Veracruz, Mexico were evaluated using calves with an age and weight live (WL) of 3 to 8 months and 50 to 150 kg. eggs reduction test was used to detect GIN resistant to albendazole and the quantity of eggs per gram of feces was performance with modified MacMaster test. According with the level of parasitism, animals were distributed to two experimental groups (n = 15): 1) control group, 2) treated group with albendazole (5.0 mg per kg of WL). Fourteen days after-treatment, another sample of feces was taken to determine the level of gastrointestinal parasitism and to carry out cultures to identify the genus of nematodes. An interview was conducted to obtain information about possible risk factors associate to anthelmintic resistant. The prevalence of CF with GIN resistant to Benzimidazoles was 71.43% (5/7). There was not association between risk factors and GIN ( $P>0.05$ ). *Haemonchus* spp was the main genus of GIN resistant to benzimidazoles. It is concluded that CF evaluated in the central region of Veracruz

has a serious problem of GIN resistant to albendazole and it is suggested that the use of anthelmintics should be performed according with Medical Veterinary supervision.

**Key words:** Cattle, gastrointestinal nematodes, benzimidazole, anthelmintic resistance.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas a los que se enfrentan los bovinos (*Bos taurus* – *Bos indicus*) en pastoreo son las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales (NGI), especialmente los animales jóvenes e inmunodeprimidos. Los NGI representan una amenaza a la salud y al bienestar de los bovinos [3, 23, 27] y causan importantes pérdidas económicas en términos de enfermedades, disminución de parámetros productivos y muerte de animales [34]. El control de los NGI se ha basado en el uso de antihelmínticos de amplio espectro de las familias de los imidazotiazoles, benzimidazoles y lactonas macrocíclicas [9, 15, 21, 35]. No obstante, este método de control se ha dificultado por la presencia de poblaciones de NGI resistentes a los antihelmínticos.

La resistencia antihelmíntica es la presencia de individuos de NGI capaces de tolerar y sobrevivir a la aplicación de dosis normales de antihelmínticos y favorece la presencia de residuos químicos en los productos de origen animal y/o en el medio ambiente [3, 20, 31]. El problema de la resistencia antihelmíntica ha sido principalmente reportado en ovinos (*Ovis aries*) y caprinos (*Capra hircus*) [7, 23, 30]. En bovinos existen menos reportes, posiblemente porque se creía que debido a una respuesta inmune más rápida contra los NGI, la resistencia antihelmíntica no representaba un problema. No obstante, y debido a reportes recientes en varios países [1, 10, 12, 18, 24, 25, 28], esta percepción ha cambiado y la resistencia parece ir en incremento, lo cual preocupa a la comunidad veterinaria. Sutherland y Leathwick [29] mencionan que, la resistencia representa una amenaza para las actuales estrategias de control de NGI y el diagnóstico en campo es más complicado en bovinos que en pequeños rumiantes.

En México, existe poca información sobre la resistencia de los NGI a los benzimidazoles en las unidades de producción bovinas (UPB), a pesar de que es la familia de antihelmínticos más utilizada durante las últimas décadas y actualmente existen dudas sobre su eficacia. Es necesario identificar poblaciones de NGI resistentes para poder desarrollar e implementar estrategias de control integral que optimicen el uso adecuado de los antihelmínticos y contrarresten el impacto económico de las parasitosis en las UPB. Desde el punto de vista epidemiológico es importante conocer, la distribución del problema de la resistencia para prevenir y controlar la difusión de las poblaciones de NGI resistentes a los antihelmínticos.

Los objetivos de este estudio fueron: i) diagnosticar UPB con aislados de NGI resistentes al albendazol (benzimidazoles), ii) conocer el uso de los antihelmínticos en las UPB e iii) identificar el género de los NGI resistentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización geográfica

El estudio se realizó durante los meses de mayo 2009 a enero 2010, en UPB localizadas en la zona centro del estado de Veracruz, México. Se evaluaron siete UPB pertenecientes a los municipios de Tlapacoyan, Martínez de la Torre, San Rafael y Vega de Alatorre en la zona bajo estudio. El clima de la región es trópico húmedo con una temperatura media anual de  $23,4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , una precipitación anual de  $1991 \pm 392$  mm y una humedad relativa del 85% [14]. En esta región tropical, la alimentación de los animales está basada en el uso directo del forraje a través del pastoreo y las enfermedades parasitarias representan el 80% de los problemas de salud en los bovinos. La selección y muestreo de las UPB se realizó por conveniencia porque sólo se incluyeron UPB con productores cooperantes que tuvieron el número suficiente de becerros de crianza infectados naturalmente con NGI.

### Animales experimentales y entrevistas

En cada UPB seleccionada se utilizaron becerros pre-destete con una edad y peso aproximado de 3 a 8 meses y de 50 a 150 kg, respectivamente. Los criterios de inclusión en el estudio fueron: 1) no haber sido desparasitados al menos dos meses previos al estudio y 2) que estuvieran eliminando al menos 150 huevos por gramo de heces (HGH). Para detectar la presencia de NGI resistentes a los antihelmínticos se utilizó la técnica de reducción de huevos en heces recomendada por Coles y col. [8].

Además, en cada UPB se aplicó una entrevista semi-estructurada para obtener información sobre el uso de los antihelmínticos, el manejo de la unidad de producción, número de animales, frecuencia del tratamiento y raza de los animales.

### Diseño experimental

En cada UPB los becerros fueron distribuidos a los siguientes grupos experimentales con cargas parasitarias similares: Grupo 1: 15 becerros que permanecieron como testigo y grupo 2: 15 becerros que fueron desparasitados con benzimidazoles (albendazol al 10% vía oral a dosis de 5,0 mg por kg de PV). Previo al tratamiento, los animales se pesaron individualmente para aplicar los antihelmínticos de acuerdo al peso exacto.

### Análisis de laboratorio

Se tomó una muestra (aproximadamente 5 g / animal) de heces directamente del recto de cada animal antes del tratamiento y 14 días después del mismo. La muestra se tomó en

una bolsa de polietileno identificada con el número del animal y se colocó en un recipiente con refrigerante para transportarla al laboratorio de Parasitología del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (FMVZ-UNAM) donde se determinó el número de HGH de NGI mediante la técnica de McMaster modificada [32].

De cada grupo experimental se realizó un coprocultivo, el cual se mantuvo a temperatura (28°C) y humedad (80%) controlada durante siete días para obtener larvas de NGI en cada grupo. La identificación de larvas se realizó de acuerdo a las guías descritas por Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAFF, por sus siglas en inglés) [19] y Bowman y Lynn [5].

### Análisis estadístico

Para calcular el porcentaje de reducción (% R) de HGH y el intervalo de confianza al 95% (IC95%) se utilizó el programa estadístico RESO.EXE® [2]. Un aislado de NGI se consideró resistente cuando el % R de huevos fue igual o menor al 95% y el límite inferior del IC95% fue igual o menor al 90%. Una cepa se consideró baja resistente cuando ocurrió uno de los dos criterios anteriores.

Para conocer el grado de asociación (razón de probabilidades/OR) entre las variables independientes (factores de riesgo) y la variable de respuesta (resistencia al albendazol), los datos fueron dicotomizados y analizados en las tablas de contingencia (2 x 2) del programa Epi Info v 6,02 [11]. Se utilizó una prueba de Ji cuadrado para conocer el nivel de significancia entre cada asociación. Las variables independientes con valores de  $P \leq 0,20$  fueron incluidas en un análisis multivariado. En este estudio, las variables que ingresaron al modelo de regresión logística fueron el fin zootécnico, el sistema de producción, la raza, si los productores pesan o no a los animales para aplicar el desparasitante, la rotación de productos químicos, la utilización de otra alternativa de control y la renta de potreros.

Se utilizó el programa Statistix versión 8.0 [26] para realizar un análisis de regresión logística a las variables independientes que tuvieran valores de  $P \leq 0,20$  sobre la variable de respuesta (resistencia a benzimidazoles) en el análisis univariado [22]. Se obtuvieron los valores de Odds Ratio (OR) para establecer la fuerza de asociación entre el factor de riesgo y la resistencia a los antihelmínticos, el intervalo de confianza (IC 95%), y el coeficiente de regresión de  $\beta$ . Las variables independientes ordinales y nominales se transformaron en variables Dummy [22] para poder ser analizadas en el modelo de regresión logística.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El primer objetivo de este estudio fue diagnosticar UPB con aislados de NGI resistentes al albendazol. La prevalencia de UPB con NGI resistentes al albendazol fue de 71,43% (5/7) (TABLA I) y el porcentaje de reducción de huevos en los hatos resistentes fue de 95; 84; 99; 96 y 79%. Sólo dos UPB tuvieron

NGI sensibles a los benzimidazoles. Este es el primer reporte de UPB con NGI resistentes a los benzimidazoles en México. A nivel mundial, el número de reportes de resistencia de los NGI han incrementado durante los últimos cinco años [6, 10, 24, 28]. Suárez y Cristel [28] reportaron en Argentina una prevalencia de hatos bovinos resistentes a los benzimidazoles del 32%. En Brasil, Soutello y col. [24] reportaron un porcentaje del 20% de ranchos con aislados de NGI resistentes a los benzimidazoles. Los resultados de este estudio muestran una mayor prevalencia de NGI resistentes en la zona centro de Veracruz, México, lo cual es un factor que pudiera limitar la productividad y la salud de los hatos bovinos. Por lo tanto, es necesario re-definir las estrategias de control de los NGI bajo un esquema de control integrado que incluya un mejor manejo de los pastizales, buenas prácticas en el uso de los productos químicos y otras alternativas que mejoren el manejo de los parásitos en "refugio".

El segundo objetivo de este estudio fue conocer el uso de los antihelmínticos en las UPB. De las siete UPB evaluadas, el 71,4% (5/7) correspondió a un fin zootécnico de doble propósito y el sistema de producción predominante fue el semi-intensivo (5/7). Al momento del estudio, la familia de antihelmínticos más utilizada fueron los benzimidazoles 54,1% (4/7) seguido de los lactonas macrocíclicas con 28,5% (2/7) e imidazotiazoles con 14,2% (1/1). Respecto al manejo de los antihelmínticos se observó que, el 71,4% (5/7) de los productores no pesa a los animales antes de aplicar el desparasitante. No obstante, el 71,4% (5/7) mencionó que rota entre familias de antihelmínticos. A pesar de que no se identificaron factores de riesgo relacionados con la resistencia ( $P > 0,05$ ), se observó que una elevada proporción de productores utiliza de manera inadecuada los antihelmínticos. Por ejemplo, el 71% no pesa a los animales para realizar una aplicación correcta de los productos. La aplicación de los AH a nivel de campo (cuando no se pesan a los animales) se realiza

**TABLA I**  
**PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE HUEVOS DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES Y DIAGNÓSTICO DE RESISTENCIA AL ALBENDAZOL (BENZIMIDAZOLES) EN UNIDADES DE PRODUCCIÓN BOVINA DE VERACRUZ, MÉXICO**

UPB	% de Reducción de Huevos	IC (95%)	Diagnóstico
1	95	57-99	BR
2	84	54-94	R
3	99	95-100	S
4	100	-	S
5	99	90-100	BR
6	96	83-99	BR
7	79	0-96	R

IC (95%) = Intervalo de confianza del 95%; R = unidades de producción bovina (UPB) con NGI resistentes al albendazol (benzimidazoles); BR = UPB con NGI con baja resistencia a los benzimidazoles; S = UPB con NGI sensibles al albendazol.

de acuerdo a dos criterios: 1) se calcula visualmente el peso de cada animal o 2) se determina el peso promedio del grupo de animales a desparasitar. Es probable que bajo estos criterios de desparasitación un alto porcentaje de animales puedan ser (uno u otro) sub-dosificados o sobre-dosificados. Existe una fuerte relación entre la eficacia de los antihelmínticos y la concentración terapéutica del fármaco [16, 33]. Especialmente cuando se sub-dosifica, los niveles terapéuticos de los antihelmínticos no son suficientes para eliminar el 100% de la población de NGI, implica que una proporción de parásitos pueden estar en contacto con dosis bajas de antihelmíntico y en consecuencia desarrollar resistencia en pocas generaciones. Después de aplicar un antihelmíntico, invariablemente existe un periodo de tiempo donde disminuye la concentración de la droga y durante este descenso es más factible que las larvas resistentes puedan establecerse en el hospedero y las sensibles no [29]. Esto puede exacerbarse cuando la aplicación de los antihelmínticos se realice de forma inadecuada. Por lo tanto, es necesario promover entre los productores de bovinos en el trópico el uso correcto de los antihelmínticos y sobre todo que se genere información que ayude al buen uso de los mismos a nivel de campo (por ejemplo, la utilización de medidas zoométricas como el perímetro torácico y su relación con el peso vivo de los animales en el trópico).

El tercer objetivo fue identificar el género de NGI resistentes al albendazol en las UPB. Los géneros de NGI resistentes que se identificaron en las unidades de producción fueron *Haemonchus* spp (7/7) 100%, *Strongyloides* (3/7) 42,85%, *Oesophagostomum* (1/7) 14,28% y *Ostertagia* (1/7) 14,28%. *Haemonchus* spp fue el NGI que se identificó con mayor frecuencia en todas las UPB resistentes a los benzimidazoles. Estos resultados son consistentes a lo mencionado por otros autores quienes identificaron a *Haemonchus* spp como el principal género de NGI resistente a los antihelmínticos [4, 6, 13, 17, 24]. La elevada frecuencia de aislados de *Haemonchus* spp resistentes a los antihelmínticos está relacionado con su elevado potencial biológico [15]. Köhler [16] identificó que, el mecanismo que desarrolla *Haemonchus* spp para resistir a los benzimidazoles está asociado a una mutación de punto (reemplazamiento del aminoácido fenilalanina por tirosina) en la posición 200 de un gen  $\beta$ - tubulina e implica una pérdida de la afinidad de las drogas a los microtubulos del parásito. En este estudio también se identificaron otros géneros de NGI resistentes a los antihelmínticos (*Oesophagostomum* y *Ostertagia*) por lo que es necesario que se consideren medidas de bioseguridad en la movilización de animales con la finalidad de prevenir la difusión del problema entre regiones del país.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las UPB evaluadas tienen NGI resistentes al albendazol que puede estar relacionada con el mal uso de los antihelmínticos en campo. El género de NGI identificado con mayor fre-

cuencia en las UPB con NGI resistentes a los benzimidazoles fue *Haemonchus* spp.

Se sugiere implementar medidas de bioseguridad en las UPB para evitar la difusión de aislados de NGI resistentes así como implementar buenas prácticas en el uso de los antihelmínticos. Es necesario continuar realizando estudios de resistencia en campo para obtener información sobre la situación de otras familias de antihelmínticos en más UPB así como estudios que involucren el sacrificio de algunos animales con la finalidad de conocer el género y especie de los NGI resistentes en el trópico de México.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el apoyo económico para realizar este trabajo (CONACYT – Apoyo Complementario a Investigadores en proceso de Consolidación [SNI 1]; Proyecto No. 118371).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANZIANI, O.S.; ZIMMERMANN, G.; GUGLIELMONE, A.A.; VAZQUEZ, R.; SUAREZ, V.H. Avermectin resistance in *Cooperia pectinata* in cattle in Argentina. **Vet. Rec.** 149: 58-59. 2001.
- [2] ANIMAL HEALTH COMMITTEE. Staining. Committee on Agriculture. Tech. Rep. Ser. No. 28. Anthelmintic resistance. CSIRO, Australia. 26 pp. 1989.
- [3] ARAUJO, R.N.; PADILHA, T.; ZARLENGA, D.; SONSTEGARD, T.; CONNOR, E.E.; CURT VAN TASSEL, L.; WALTER, S.; NASCIMENTO, E.; GASBARRE, L.C. Use of a candidate gene array to delineate gene expression patterns in cattle selected for resistance or susceptibility to intestinal nematodes. **Vet. Parasitol.** 162: 106-115. 2009.
- [4] BORGES, F.A.; SILVA, H.C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V.E.; SANTOS, E.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J. Endectocide activity of a new long-action formulation containing 2.25% ivermectin + 1.25% abemectin in cattle. **Vet. Parasitol.** 155: 299-307. 2008.
- [5] BOWMAN, D.D.; LYNN, R.C. Diagnostic parasitology. In: Bowman, D.D. & Lynn, R.C. (Eds). **Georgis' Parasitology for Veterinarians**, 7th Ed. Philadelphia, W.B. Saunders, Pp 303-324. 1999.
- [6] CANUL-KU, H.L.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; AGUILAR-CABALLERO, A.J.; PÉREZ-COGOLLO, L.C.; OJEDA-CHI, M.M. Frecuencia de nematodos resistentes a ivermectina en hatos bovinos de Yucatán, México. **Mem. VIII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria**. Mérida, Yucatán. 10/26-28. México. Pp 127-129. 2009.

- [7] CHARTIER, C.; PORS, I.; HUBERT, J.; ROCHETEAU, D.; BENOIT, C.; BERNARD, N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. **Small. Rum. Res.** 29: 33-41. 1998.
- [8] COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. 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. 1992.
- [9] COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.E.; PRICHARD, R.K.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M.A.; VERCRUYSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet. Parasitol.** 136: 167-185. 2006.
- [10] CONDI, G.K.; SOUTELLO, R.G.V.; AMARANTE, A.F.T. Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil. **Vet. Parasitol.** 161: 213-217. 2009.
- [11] DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COUMBIER, D.; BRENDEN, K.A.; SMITH, D.C.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C.; SULLIVAN, D.; FAGAN, R.F.; ARNER, T.G. Centers Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia, E.U.A. Epi Info. Version 6. 1994.
- [12] ENCALADA, M.L.A.; LÓPEZ, A.M.E.; MENDOZA, G.P.; LIÉBANA, H.E.; VÁZQUEZ, P.V., VERA, Y.G. Primer informe en México sobre la presencia de resistencia a ivermectina en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales. **Vet. Méx.** 39 (4): 423-428. 2008.
- [13] GASBARRE, L.C.; SMITH, L.L.; HOBERG, E.; PILITT, P.A. Furter characterization of a cattle nematode population with demonstrated resistance to current anthelmintics. **Vet. Parasitol.** 166: 275-280. 2009.
- [14] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA (INEGI). Anuario estadístico del estado de Veracruz. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, D.F. 1: Pp 1-25. 2010.
- [15] KAPLAN, R.M. Biology and epidemiology of anthelmintic resistance in parasitic nematodes. **Mem. VIII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria.** Mérida, 10/26-28. Yucatán. México. Pp 47-48. 2009.
- [16] KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **Int. Parasitol.** 31: 336-345. 2001.
- [17] LE JAMBRE, L.; DOBSON, R.J.; LENANE, I.J.; BARNES, E.H. Selection for anthelmintic resistance by macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*. **Int. Parasitol.** 29: 1101-1111. 1999.
- [18] MÁRQUEZ, D.; JIMÉNEZ, G.; GARCÍA, F.; GARZÓN, C. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en municipios de Cundinamarca y Boyacá. **Rev. Corpoica – Cien. Tecnol. Agrop.** 1: 113-123. 2008.
- [19] MINISTRY OF AGRICULTURE FISHERIES AND FOOD. HELMINTHOLOGY (MAFF). Helminthology. In: **Manual of Veterinary Parasitology Laboratory Techniques.** Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF). London, Her Majesty's Stationary Office. Pp 1-65. 1986.
- [20] SANGSTER, N.C.; GILL, J. Pharmacology of anthelmintic resistance. **Parasitol. Today.** 15: 141-146. 1999.
- [21] SHOOP, W.L.; SOLL, M. Chemistry, pharmacology and safety of the macrocyclic lactones. In: Vercruyse, J., Rew, R.S. (Eds.). **Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy.** CAB International, Wallingford, UK. Pp 1-29. 2002.
- [22] SILVA, A.L.C. Variables dummy. **Excursión a la regresión logística en ciencias de la salud.** Ed. Díaz de Santos. La Habana, Cuba. Pp 33-42. 1995.
- [23] SOLANO, S.O. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos en un rebaño ovino en el trópico húmedo de México. Xalapa (Veracruz) México: Universidad Veracruzana. Tesis de Grado. Pp 1-34. 2003.
- [24] SOUTELLO, R.G.V.; SENO, M.C.Z.; AMARANTE, A.F.T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil. **Vet. Parasitol.** 148: 360-364. 2007.
- [25] SOUZA, A.P.; RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; SCHELBAUER, C.A. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a antihelmínticos no Planalto Catarinense. **Cien. Rur.** 38: 1363-1367. 2008.
- [26] STATISTIX 8.0 FOR WINDOWS. Analytical software. Tallahassee, F.L. 2003.
- [27] STROMBERG, B.E., MOON, R.D. Parasite control in calves and growing heifers. **Vet. Clin. N. Am. Food A.** 24: 105-116. 2008.
- [28] SUAREZ, V.H.; CRISTEL, S.L. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. **Vet. Parasitol.** 144: 111-117. 2007.
- [29] SUTHERLAND, I.A.; LEATHWICK D.M. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? **Trends Parasitol.** 27: 176-181. 2011.
- [30] TORRES-ACOSTA, J.F.J.; VILLARROEL-ÁLVARES, M.S.; RODRÍGUEZ-ARÉVALO, F.; GUTIÉRREZ-SEGURA, I.; ALONSO-DÍAZ, M.A. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales resistentes a bencimidazoles e imidazotiazoles en un rebaño caprino de Yucatán, México. **Rev. Biomed.** 14: 75-81. 2003.
- [31] TORRES-ACOSTA, J.F.J.; DZUL-CANCHE, U.; AGUILAR-CABALLERO, A.J.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.

- Prevalence of benzimidazole resistant nematodes in sheep flocks in Yucatan, Mexico. **Vet. Parasitol.** 114: 33-42. 2003.
- [32] UENO, H.; GONÇALVES, P.C. Diagnóstico. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes.** 4 Ed. Japan International Cooperation Agency, Tokyo, Japan. 143 pp. 1998.
- [33] VAN ZEVEREN, A.M.; CASAERT, S.; ALVINERIE, M.; GELDHOF, P.; CLAEREBOUT, E.; VERCRUYSSSE, J. Experimental selection for ivermectin resistance in *Ostertagia ostertagi* in cattle. **Vet. Parasitol.** 150: 104-110. 2007.
- [34] WALLER, P.J. Sustainable helminth control of ruminants in developing countries. **Vet. Parasitol.** 71: 195-207. 1997.
- [35] WALLER, P.J. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. **Vet. Parasitol.** 139:1-14. 2006.