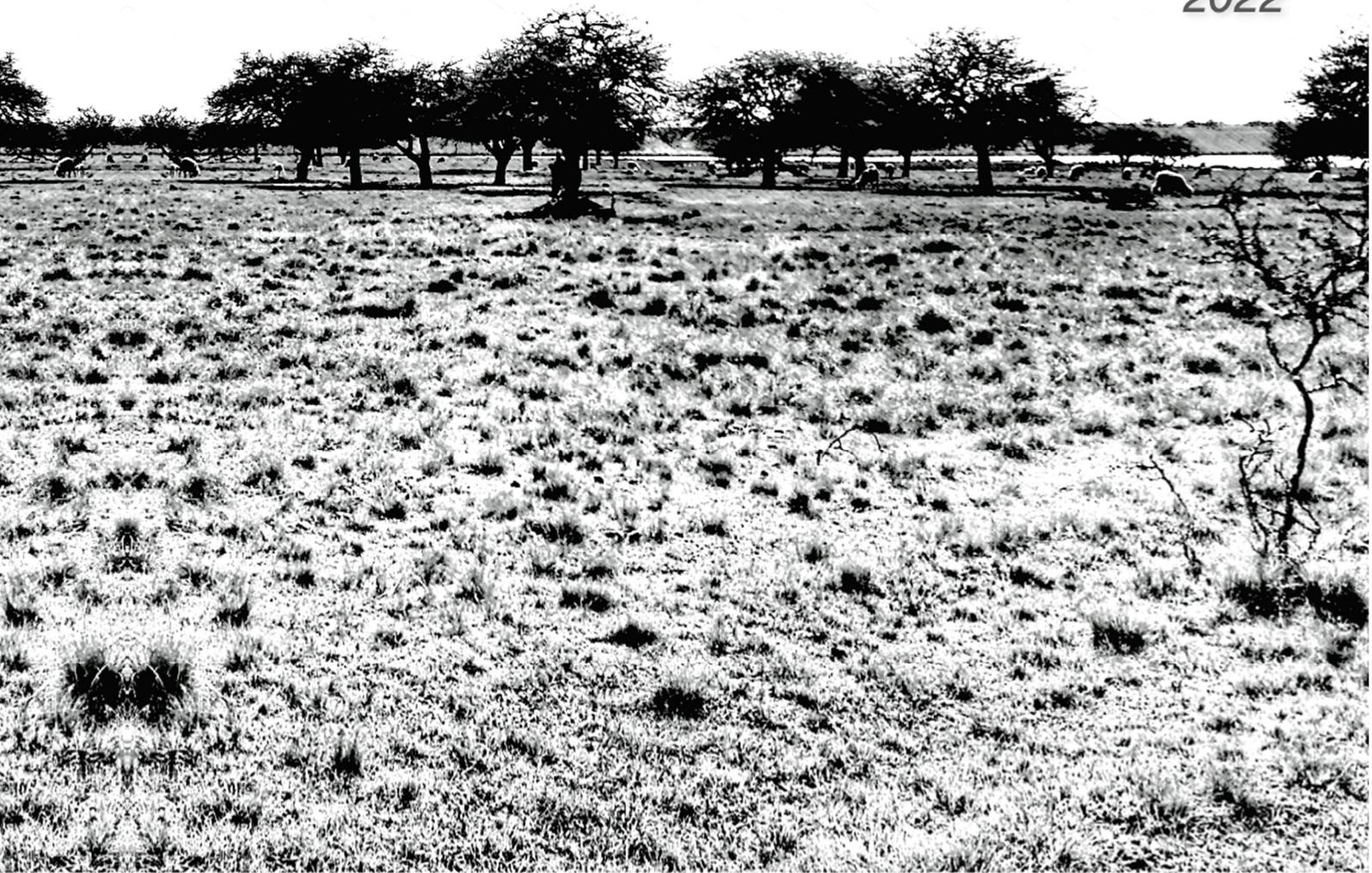


Estudio de persistencia de la infectividad en los pastos de larvas de *Haemonchus contortus* susceptibles y resistentes a bencimidazoles

en el sur de la provincia de corrientes

Alvaro Niño Uribe
2022





UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trabajo de tesis realizado como requisito para optar al título de:

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

“Estudio de persistencia de la infectividad en los pastos, de larvas de *Haemonchus contortus* susceptibles y resistentes a bencimidazoles, en el sur de la provincia de Corrientes”

AUTOR: NIÑO URIBE, Alvaro Iván

DIRECTOR: ROMERO, Jorge Roberto

COORDIRECTOR: ANTONINI, Alicia

LUGAR DE TRABAJO:

Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE)
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La
Plata

MIEMBROS DEL JURADO:

Dra. LLOBERAS, María Mercedes

Dra. MESTORINO, Olga Nora

Dra. ZONTA, María Lorena

AÑO 2022

“El conocimiento ilumina la realidad y nos ayuda a profundizar en su comprensión, las habilidades constituyen la interfaz entre conocimiento y realidad, las actitudes son las que dinamizan la interacción y los valores orientan nuestra acción para que cobre significado”.

Joan Mateo y Dimitrios Vlachopoulos

Dedicatoria

A mis padres por la vida y junto con mis hermanas
enseñarme a vivirla.

A mi familia por darme siempre alas para volar, raíces para
volver y razones para quedarme.

A esos amigos que estuvieron a mi lado en la luz, y más
cuando hubo oscuridad, esos que te ayudan a levantarte y te
elevan más alto, esos que te refrescan el alma.

A mi compañera de viaje que es la brújula que guía mi
camino, el impulso para seguir hacia adelante hasta lo más alto
y el mayor consuelo cuando algo sale mal.

Agradecimientos

Antes que nada, quiero dar gracias a Dios por no dejarme caer, por darme fuerzas para continuar y por ayudarme a nunca perder la fe. A la República Argentina, que me acogió como uno más de sus ciudadanos y a través de la Universidad Nacional de la Plata me brindó la posibilidad del conocimiento.

A las instituciones Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE) y la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Mercedes Corrientes del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) que hicieron posible esta investigación, y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la oportunidad.

También quiero agradecer a todas las personas que con su apoyo científico y humano colaboraron en la elaboración del presente trabajo. A Jorge Romero por la orientación, el tiempo dedicado, los conocimientos y los consejos brindados. A mis amigos Federico Illanes que con su solidaridad y compromiso estuvo al frente de todo cuando no pude hacerlo y me enseñó que en la vida todo es mejor si vas acompañado. A César Pruzzo por demostrarme que no existen cosas imposibles y día a día hacerme ver lo fácil dentro de lo complejo. A Magalí Romero que me enseñó que no hay que esperar a que terminé la tormenta, sino aprender

a bailar bajo la lluvia. A Catalina Lauroua por su apoyo, aliento y estar siempre presente para dar una mano. A mi esposa que, cuando el camino se hizo pedregoso y oscuro, siempre permaneció conmigo para darme luz.

A la Dra. Alicia Antonini por su tiempo, dedicación y capacitación en el manejo y procesamiento de los datos e información.

A todos los pasantes, alumnos y residentes principalmente a Jonathan Zeberio, Enzo Cantero y Carlos Cherrutti que me acompañaron en muchos de los trabajos de campo. A los docentes del CEDIVE Adrián Di Paolo, Luis Peralta, Gabriel Travería, Fiorella Alvarado y Dolores Ancinas, por su orientación y disposición, y los no docentes Martín Videla y Héctor Falero por facilitar el trabajo.

A todo el personal de la EEA INTA Mercedes, especialmente a Bibiana Cetrá, Marisa Pereira y Matilde Pereyra, que trabajaron en conjunto día tras día y permitieron la finalización del presente trabajo.

Por todo esto, y por todas aquellas personas que estuvieron en algún momento, no puedo decir otra palabra más que "gracias".

**Citas bibliográficas correspondientes a las publicaciones
parciales relacionadas al trabajo de tesis**

Niño Uribe, A.; Illanes, F.; Pruzzo, C.; Romero, J. Comportamiento y Mantenimiento de la Cepa CEDIVE en Condiciones de Laboratorio. 2016. VI Jornadas de Jóvenes Investigadores, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

Niño Uribe, A.; Illanes, F.; Pruzzo, C.; Romero, J. Estrategias de Control Parasitario: Evaluación de la concentración en el almacenamiento de larvas de Haemonchus contortus en condiciones de laboratorio. 2017. InVet. Buenos Aires: FundaVet. 2017 Vol.19 N°2. ISSN 1514- 6634. eISSN 1668-3498.

Niño Uribe, A.; Illanes, F.; Pruzzo, C.; Romero, J. 2018. Estudio de persistencia de la infectividad en las pasturas, de larvas de Haemonchus contortus susceptibles y resistentes a bencimidazoles, en el sur de la provincia de Corrientes. Resultados parciales. XXVII Encuentro Rioplatense de Veterinarios Endoparasitólogos (ERVE) – Puerto Iguazú.

Niño Uribe, A.; Cetrá, B.; Pereira, M.; Gómez, S.; Illanes, F.; Romero, J. Estudio de persistencia de la infectividad en los pastos, de larvas de Haemonchus contortus susceptibles y resistentes a bencimidazoles, en el sur de la provincia de Corrientes. 2018. Noticias y comentarios, No 560. INTA EEA, Mercedes. ISSN No 0327-3059.

Índice de contenidos

1. Introducción	1
1.1. Consideraciones generales de la producción ovina	2
1.2. Gastroenteritis verminosa en ovinos (GEV)	8
1.3. Fundamentos bio-epidemiológicos.....	14
1.3.1. Hospedador y susceptibilidad	15
1.3.2. <i>Haemonchus contortus</i> como agente etiológico	17
1.3.3. Fases de vida libre de <i>Haemonchus contortus</i>	25
1.3.4. Características del ambiente	41
1.3.5. Parámetros y modelos climáticos.....	43
1.4. Control parasitario basado en fármacos	45
1.5. Resistencia antihelmíntica.....	48
1.6. Diagnóstico de resistencia antihelmíntica	56
1.7. Control parasitario a través de estrategias alternativas.....	59
1.8. Planteamiento del problema.....	66
1.9. Objetivos.....	68
1.10. Hipótesis del estudio.....	68
2. Materiales y Métodos	69
2.1. Lugar de trabajo.....	70
2.2. Datos climáticos	71
2.3. Cepas parasitarias	74
2.4. Protocolo de desparasitación previo a cualquier inclusión de animales en los ensayos.....	77
2.5. Recolección de huevos y cultivo de larvas	78

2.6.	Inoculaciones	79
2.7.	Prueba de eclosión y desarrollo larval.....	81
2.8.	Parcelas experimentales para el ensayo de persistencia.....	82
2.9.	Contaminación de las parcelas.....	84
2.10.	Rastreo de las parcelas	85
2.11.	Análisis estadístico	88
3.	Resultados	90
3.1.	Datos climáticos	90
3.2.	Prueba de eclosión y desarrollo larval.....	96
3.3.	Contaminación de las parcelas.....	102
3.4.	Rastreo de las parcelas.....	107
4.	Discusión	115
5.	Conclusiones	124
6.	Bibliografía	128

Abreviaturas y símbolos

°C: grados Celsius.

μl: microlitro.

<: menor.

>: mayor.

~: cantidad aproximada.

A1: parcela de otoño con la cepa foránea.

A2: parcela de invierno con la cepa foránea.

A3: parcela de primavera con la cepa foránea.

A4: parcela de verano con la cepa foránea.

AAD: derivados de amino-acetonitrilo.

ACSRPC: American Consortium for Small Ruminant Parasite Control.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

ALmT: almacenaje total (mm).

Animales sembradores: ovinos que pastorearon un tiempo establecido con una cepa conocida para lograr una contaminación predeterminada en las respectivas parcelas.

Animales trazadores: ovinos que pastorearon por un máximo de 10 días en las respectivas parcelas luego de un tratamiento antihelmíntico realizado con medicamentos eficaces.

ANOVA: análisis de la varianza.

ARMS-PCR: sistema de mutación refractario a la amplificación por PCR.

B1: parcela de otoño con la cepa autóctona.

B2: parcela de invierno con la cepa autóctona.

B3: parcela de primavera con la cepa autóctona.

B4: parcela de verano con la cepa autóctona.

BHM: balance hídrico mensual (mm).

CEDIVE: Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias.

CI₅₀: concentración inhibidora media máxima.

cm: centímetro.

COWP: partículas de óxido de cobre.

DP: días con precipitaciones acumulados.

EEA: Estación Experimental Agropecuaria.

EPA: evapotranspiración potencial acumulada (mm).

EV: equivalente vaca.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

GABA: ácido γ -aminobutírico o ácido gamma-aminobutírico.

GC: grupo control.

GEV: gastroenteritis verminosa.

GluCl_s: canal de cloro regulado por glutamato.

gr: gramo.

Ha: hectárea.

H. contortus: *Haemonchus contortus*.

HPG: huevos por gramo de materia fecal.

HRM: humedad relativa media (%).

HRMax: humedad relativa máxima (%).

HRMin: humedad relativa mínima (%).

IC: intervalo de confianza.

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Inv: invierno.

Kg: kilogramo.

Km: kilómetro.

Kpv.: kilogramos de peso vivo.

L₁: larva de primera fase.

L₂: larva de segunda fase.

L₃: larva de tercera fase o infestante.

L₄: larva de cuarta fase.

L₅: larva de quinta fase o pre-adulto.

LDA: prueba de desarrollo larval.

Log: logaritmo.

m: metro.

m²: metro cuadrado.

Max: máximo.

mg: miligramo.

Min: mínimo.

mm: milímetro.

nAChR: receptor nicotínico de acetilcolina.

NEA: noreste Argentino.

NOA: noroeste Argentino.

P-gp: glucoproteína P.

PA: precipitaciones acumuladas (mm).

P_{anual}: precipitaciones anuales (mm).

Pb: pares de bases.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PDP: precipitaciones diarias promedio.

P_{min}: precipitaciones mínimas (mm).

R²: coeficiente de determinación.

RAPD-PCR: amplificación aleatoria de ADN polimórfico.

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

SNP: polimorfismo de nucleótido simple.

T: temperatura (°C).

TEC: test de eficacia controlada.

Th: umbral de sequedad.

TM: temperatura media anual (°C).

TmaxA: temperatura máxima absoluta (°C).

T_{min}: temperatura mínima (°C).

TminA: temperatura mínima absoluta (°C).

TMmax: temperatura media máxima (°C).

TMMin: temperatura media mínima (°C).

TRCH: test de reducción de conteo de huevos.

Ver: verano.

WAAVP: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.

Resumen

Título: *Estudio de persistencia de la infectividad en los pastos, de larvas de Haemonchus contortus susceptibles y resistentes a bencimidazoles, en el sur de la provincia de Corrientes.*

En áreas subtropicales del mundo con explotaciones ovinas el principal problema sanitario es el parasitismo gastrointestinal. El control de estas parasitosis mediante el uso intensivo de antihelmínticos ocasionó la aparición de resistencia. En Argentina, en el sur de la provincia de Corrientes, *Haemonchus contortus* prevalece durante todo el año debido a que el clima favorece su desarrollo y dispersión. Este nematodo es el que más pérdidas produce en la región.

Es necesario estudiar los tiempos de supervivencia e infectividad de las fases de vida libre, así como su potencial capacidad de adaptación. Entre el 2017 y 2019 mediante el uso de ovinos trazadores en parcelas aisladas, se realizó un análisis de supervivencia (Kaplan Meier) de dos cepas de *H. contortus* una

autóctona y otra foránea con las condiciones climáticas de cada estación del año en la región.

Se observó que los tiempos de supervivencia de las L₃ difieren para cada una de las estaciones del año ($p < 0,05$), siendo el más largo con hasta 32 semanas (7,4 meses) las sembradas en otoño y el más corto las de verano con 15 semanas (3,4 meses). Se demostró que el riesgo de morir en verano es 9,2 veces mayor que en otoño. Entre los tiempos de supervivencia de las dos poblaciones no se hallaron diferencias significativas ($p = 0,93$).

El otoño se presenta como la estación más favorable para la contaminación, desarrollo y supervivencia de las larvas, siempre y cuando las condiciones climáticas sean semejantes a las históricas de la región. El comportamiento de las dos poblaciones fue similar en las cuatro estaciones, y la capacidad de adaptación e infectividad para la población foránea fue favorable. Estos resultados sugieren que resulta viable ensayar protocolos de reemplazo de cepas, sin dejar de considerar otras herramientas estratégicas para evitar la resistencia antihelmíntica y así lograr un manejo sustentable.

Palabras clave: supervivencia, larva, *Haemonchus contortus*

Abstract

Title: *Study of the infectivity persistency on pastures of Haemonchus contortus larvae sensitive and resistant to benzimidazoles, in the south of the Corrientes province.*

In subtropical areas of the world with sheep farms, the main health problem is gastrointestinal parasitism. The control of this by intensive use of anthelmintics caused parasite resistance. In Argentina, in the south of the province of Corrientes, *Haemonchus contortus* lives thru the whole year because climate benefits its development and dispersion. This nematode is the one that produces the most economic losses in the region.

It is necessary to study the survival and infectivity times of the free-living phases, as well as their potential adaptation capacity. Between 2017 and 2019, using tracer sheep in isolated plots, a survival analysis (Kaplan Meier) of two strains of *Haemonchus contortus*, one native and one foreign, was carried out considering climatic conditions for each season of the year in the region.

It was observed that the survival time of the L3 differs on each season of the year ($p < 0.05$), being the longest with up to 32 weeks (7.4 months) those sown in autumn and the shortest those from summer with 15 weeks (3.4 months). It was proved that risk of dying in summer is 9.2 times higher than in autumn. No significant differences were found between the survival times of the two populations ($p = 0.93$).

Autumn is presented as the most favorable season for contamination, development and survival of larvae, as long as the climatic conditions are similar to the historical ones of the region. The behavior of the two populations was similar in the four seasons, and the ability to adapt and infectivity for the foreign population was favorable. These results suggest that it is feasible to test strain replacement protocols, while considering other strategic tools to avoid anthelmintic resistance and thus achieve sustainable management.

Keywords: survival, larvae, *Haemonchus contortus*

1. Introducción

Existe una gran diversidad de parásitos que causan enfermedades en los animales de producción y que ocasionan pérdidas económicas importantes. Entre ellas están las parasitosis provocadas por helmintos, tanto en bovinos (Entrocasso, 1987; Romero y col., 2007; Fiel y Nari, 2013) como en ovinos (Sánchez y Romero, 2005; Suárez y col., 2007; Illanes, 2021) en las regiones templadas de Argentina y Uruguay.

La lista de parásitos del Phylum nematoda (Rudolphi, 1808) de ovinos citados en nuestro país incluyen *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Trichostrongylus axei*, *Teladorsagia circumcincta*, *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp., *Trichuris ovis*, *Strongyloides papillosus* y *Bunostomum* spp. Aunque todos estos contribuyen al problema, es *H. contortus* el más patógeno y que en conjunto con *T. colubriformis* y *T. circumcincta* prevalecen en la mayoría de las regiones destinadas a la producción ovina (Lukovich, 1985; Suárez y col., 2007; Kaplan, 2013). Particularmente en el NEA argentino el primero de ellos es responsable de los brotes más frecuentes, aunque siempre asociado con otras especies parasitarias, presentando variaciones en las proporciones según la época (Illanes, 2021).

1.1. Consideraciones generales de la producción ovina

En la actualidad el stock mundial de ovinos es de aproximadamente 1.363 millones de cabezas (FAO, 2020). Este stock se distribuye de la siguiente manera: Asia 572 millones, África 368 millones, Europa 163 millones, Oceanía 136 millones, América del Sur 96 millones y América del Norte y Central 28 millones (Fig. 1). Los países con más cantidad de Cabezas son China, Australia e India.

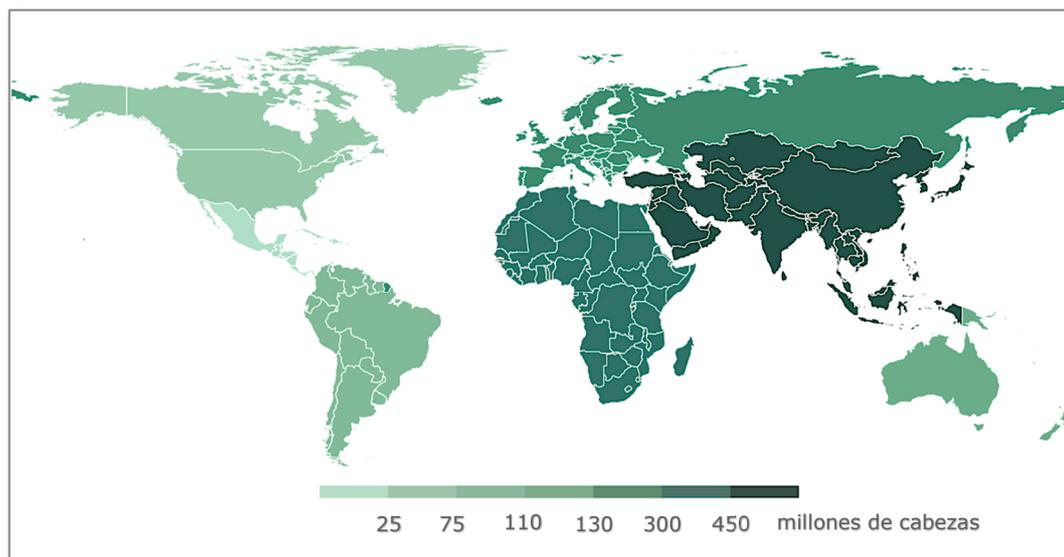


Figura 1. Distribución del stock ovino mundial por millones de cabezas (FAO-Faostat, 2020). Valores ascendentes de verde claro a verde oscuro.

La producción de lana se lleva a cabo en alrededor de 100 países en donde se producen aproximadamente 2.200.000 de toneladas por año. Australia, China y Nueva Zelanda representan el 50 % de la producción. Argentina está ubicada en el sexto

puesto a nivel mundial con 40.695 toneladas por año (PROLANA, 2017). En la década de 1980 se presentó una crisis en la producción de lana (FAO-Faostat, 2020) que disminuyó el stock mundial hasta el 2003. A partir de ese momento China comenzó a incrementar su stock, contribuyendo con la caída en el stock de quienes eran sus tradicionales proveedores que no lograron generar mercados alternativos. Al mismo tiempo la demanda de lanas de cruce mediana y gruesas cayó irreversiblemente.

En cuanto a la producción de carne, la misma es de 8.255.295 toneladas por año, siendo los principales productores China con 1.978.000 toneladas, Australia con 693.000 toneladas y Nueva Zelanda con 598.094 toneladas. Estos dos últimos países son los mayores exportadores mundiales de carne ovina, comercializando el 72% del volumen total del mercado exterior.

La producción de leche es de 9.147.000 de litros por año, que representan un 1.4% sobre el total de leche producida. La producción de leche ovina se destina principalmente a la elaboración de quesos, el resto a consumo directo y alimentación de corderos. El 75% de la producción mundial está concentrada en 12 países: China, Turquía, Grecia, Siria, Italia, Irán, Uzbekistán, Rumania, Sudan, Somalia, España y Francia.

En Argentina, se estima que las existencias de ovinos son de 14.774.025 de cabezas aproximadamente (SENASA, 2020) (Fig. 2).

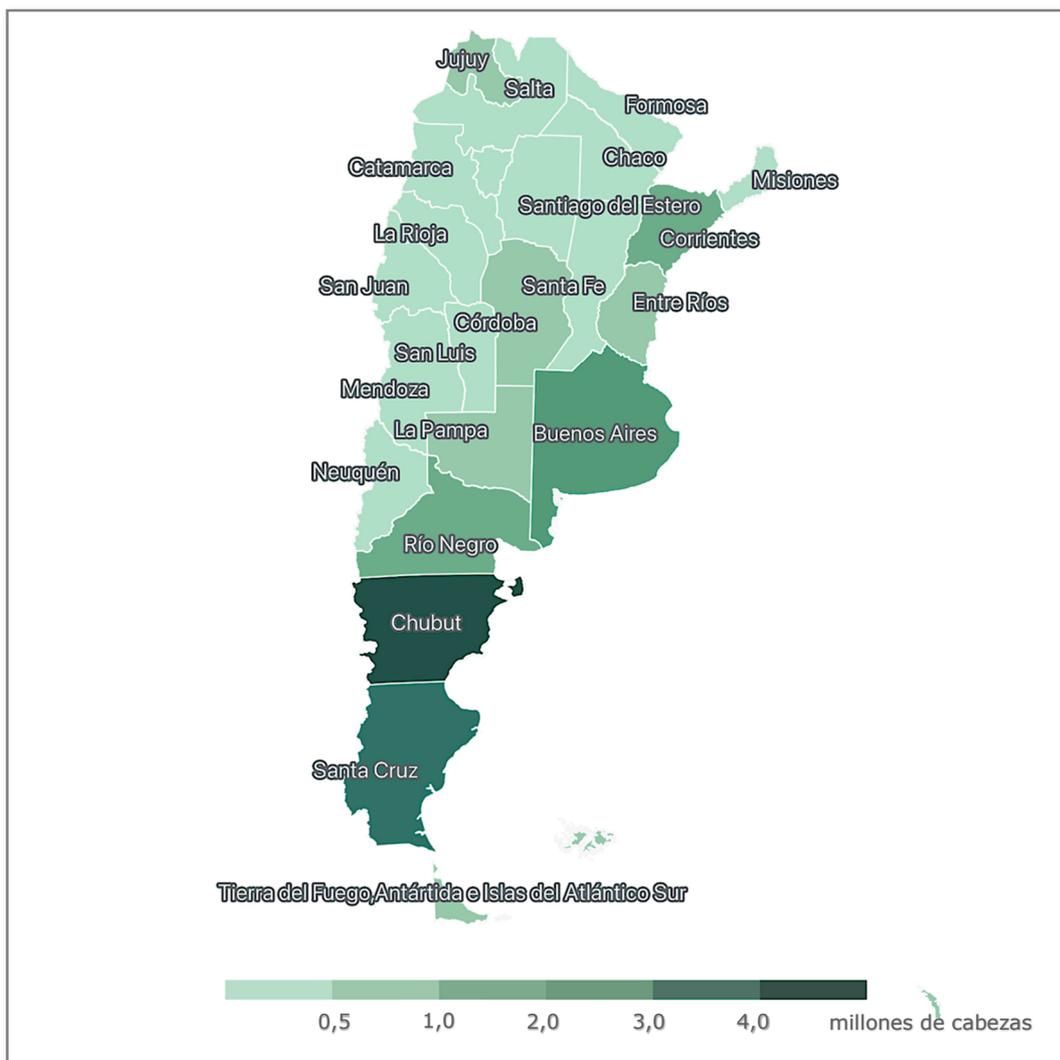


Figura 2. Distribución del stock ovino nacional por millones de cabezas. (SIGSA - Dirección de Control de Gestión y Programas Especiales - SENASA 2018).

Las regiones con más cabezas de explotación de lana son la Patagonia, la llanura Pampeana y la Mesopotamia. La provincia de Buenos Aires presenta alrededor de 2.000.000 de cabezas, Entre Ríos 600.000 cabezas y Corrientes algo menos de 1.100.000 cabezas.

En el país se producen 55.700 toneladas de carne por año, las cuales para consumo interno se destinan 50.500 toneladas y se exportan, principalmente a Europa 5.200 toneladas (Ministerio de Agroindustria, 2017).

En la Patagonia el modelo exclusivo es la explotación lanera, principalmente lanas finas, predominando la raza Merino. En las provincias de Tierra del Fuego y Santa Cruz predomina la raza Corriedale que presenta una lana un poco más gruesa. Aproximadamente el 62% de la producción lanar está ubicada en esta región (PROLANA, 2017).

En la región Pampeana las producciones ovinas son de medianas a bajas en número y están destinadas principalmente a la explotación de lana (media y gruesa) y secundariamente a carne y cueros. Son generalmente de autoconsumo y venta al menudeo y muy pocas con destino comercial (Suárez y col., 2007). Actualmente posee alrededor del 18% del stock nacional (SENASA, 2020). Las razas principales son Corriedale y Romney Marsh, aunque se han introducido Hampshire Down, Texel, Pampinta y Border Leicester para mejorar la producción carnicera y prolificidad debido al crecimiento del mercado interno y las posibilidades de exportación. También está la raza Pampinta desarrollada en INTA Anguil como raza lechera.

En la provincia de Buenos Aires el ovino está integrado con otras explotaciones ganaderas, siendo escasas las explotaciones exclusivamente ovinas. La composición racial de la zona está dada por Merino y Corriedale en la región Sudeste y Sudoeste, mientras que en la Zona Deprimida del Salado donde alguna vez fue predominante la raza Lincoln, actualmente predominan las razas Romney Marsh y Corriedale, con una fuerte inclinación hacia razas más carniceras como Texel, Dorper y otras. La producción provincial de lanas constituye el 5% del total nacional (PROLANA, 2017).

En el noroeste argentino (NOA) se explota al lanar junto con el ganado caprino con fines únicos de subsistencia y en algunos casos excepcionales la venta de corderos. La raza predominante es la criolla, que se usa para la obtención de fibras con fines artesanales (Suárez y col., 2007).

Finalmente, está la Mesopotamia en la que se encuentra el 10% de existencias ovinas del total nacional, distribuyéndose principalmente en el norte de la provincia de Entre Ríos en los departamentos de Feliciano, Federal y Federación, y en el sur de la provincia de Corrientes, particularmente en los departamentos de Mercedes, Curuzú Cuatiá, Monte Caseros y Paso de los Libres (SENASA, 2020). En el departamento de Mercedes, el stock ovino es de 185.272 cabezas (SENASA, 2020), con una marcada

importancia en la región, donde el 94,3% de los productores (pequeños y medianos) poseen sólo el 49,2% de esa existencia. Las razas que predominan son Corriedale, Ideal y Romney Marsh, siendo la primera la más numerosa con un 70%, enmarcadas en una actividad principalmente mixta (bovinos y ovinos) que permiten complementar adecuadamente el uso de los recursos naturales de la zona. La raza Ideal fue introducida para mejorar la calidad y precio de la lana debido a su componente Merino (De Gea, 2007), aunque con mayor susceptibilidad a enfermedades regionales. También se han introducido razas principalmente carniceras como Dorper y Texel, que presentan mayores requerimientos nutricionales, a lo que no todos los productores se adaptan. En estos sistemas mixtos, el principal objetivo es la producción de carne y lana (Suárez y col., 2007). En establecimientos con estos sistemas, los ovinos representan del 10 al 15% de la carga animal, que suele rondar en los 0,55 y 0,70 EV/ha (Montossi y col., 2013). Con el aumento de las cargas surgen mayores problemas sanitarios, principalmente desde el punto de vista parasitológico (Romero y col., 2013). Es importante remarcar que esta es una actividad socioeconómica importante para la región, participando del 5% de la producción nacional (Dutrueel y De Caro, 2019).

El control de la gastroenteritis verminosa, enfermedad que genera pérdidas productivas subclínicas de hasta 3 o 4 kg en la ganancia de peso en la recría de borregos y que puede agravarse hasta ocasionar grandes mortandades, incluso en categorías adultas (Suárez y col., 1990), suele ser la principal preocupación en cualquier programa de control sanitario, en zonas tropicales como subtropicales de todo el mundo (Armour, 1980; Miller y col., 2012). Esta De igual manera, esas pérdidas pueden ser mínimas, y al ser sobreestimadas derivan en tratamientos innecesarios y con esto la selección de cepas¹ resistentes (Illanes, 2021).

1.2. Gastroenteritis verminosa en ovinos (GEV)

Es una enfermedad omnipresente en todo el mundo causada por nematodos de los órdenes² Strongylida, Ascaridiida, Rhabditida y Trichurida que pueden alojarse en el abomaso, intestino delgado e intestino grueso de los animales (Tabla 1).

El orden Strongylida reúne ocho superfamilias de las cuales, Trichostrongyloidea contiene la mayoría de los géneros comunes en ovinos. La familia Trichostrongylidae presenta caracteres diferenciados como la ausencia de espina en la extremidad caudal

¹ Conjunto de especies que comparten, al menos, una característica o variante genética.

² Categoría taxonómica realizada por Linnaeus en 1758 en su libro *Systema naturae per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*.

en las hembras y la forma de los rayos de la bolsa copulatríz en los machos. Su amplia distribución se debe a la adaptación de las fases de vida libre a un rango amplio de condiciones climáticas a las que fueron expuestos sus hospedadores a lo largo de la historia (Suárez y Cabaret, 1991).

Órgano	Orden	Especie
Abomaso	Strongylida	<i>H. contortus</i> , <i>Haemonchus placei</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. circumcincta</i> , <i>Ostertagia ostertagi</i> , <i>Ostertagia lyrata</i> , <i>Ostertagia trifurcata</i> , <i>Marshallagia marshalli</i>
		<i>T. colubriformis</i> , <i>Trichostrongylus vitrinus</i> , <i>Trichostrongylus longispicularis</i> , <i>Trichostrongylus capricola</i> , <i>Cooperia curticei</i> , <i>Cooperia oncophora</i> , <i>Cooperia punctata</i> , <i>Cooperia pectinata</i> , <i>Cooperia serrata</i> , <i>Nematodirus filicollis</i> , <i>Nematodirus spathiger</i> , <i>Nematodirus</i> <i>oriatianus</i> , <i>Nematodirus abnormalis</i> , <i>Nematodirus battus</i> , <i>Bunostomum</i> <i>trigonocephalum</i>
Intestino delgado	Ascaridida	<i>Toxocara vitulorum</i>
	Rhabditida	<i>S. papillosus</i>
	Strongylida	<i>Oesophagostomum venulosum</i> , <i>Oesophagostomum columbianum</i> , <i>Chabertia ovina</i>
Intestino grueso	Trichurida	<i>T. ovis</i>

Tabla 1. Nematodos descritos de ovinos en Argentina de acuerdo con el órgano parasitado (Johnstone, 1971; Lukovich, 1985).

Generalmente las infecciones son mixtas, donde en cada animal y majada pueden encontrarse varias especies, dando matices al síndrome parasitario que incluye signos clínicos como inapetencia, trastornos digestivos, malabsorción, diarrea, constipación, anemia y finalmente la muerte.

En el abomaso las lesiones causadas por *Ostertagia* spp., *T. circumcincta* y *T. axei*, interfieren en la funcionalidad de las glándulas fúndicas. Esto conlleva a una disminución de la producción de ácido clorhídrico, aumentando el pH gástrico e impidiendo la activación del pepsinógeno, que da como resultado una falta de digestión proteica e hipoproteinemia. La diarrea se debe al pasaje sin digerir del contenido estomacal. *H. contortus* tiene una acción expoliatriz hematófaga, generando un cuadro de anemia como su principal signo. Suele alcanzar rápidamente altas cargas parasitarias debido a su elevado potencial biótico, por esto el cuadro de anemia y muerte de los animales se presenta rápidamente (Suárez y col., 2007).

En el intestino delgado *Cooperia* spp. y *Nematodirus* spp. generan lesiones superficiales en la mucosa intestinal, y son de gravedad en infecciones numerosas. Son más frecuentes en corderos y es muy difícil que alcancen cargas elevadas. *Bunostomum* spp. es un parásito de gran patogenicidad, sin embargo, no es frecuente encontrar cargas elevadas. *T.*

colubriformis lesiona profundamente la mucosa y genera tanto lesión inflamatoria como expoliatriz (Romero y col., 2001). *Toxocara* spp. es infrecuente y presenta una prevalencia de tan solo el 3,3% en el NOA (Cardozo, 2019).

Por último, en el intestino grueso es posible encontrar *T. ovis* y *Oesophagostomum* spp. que, por su patogenicidad combinada y cargas elevadas, producen daños relativamente graves.

El ciclo de vida de los nematodos del orden Strongylida se denomina monoxeno³, debido a que no presentan hospedadores intermediarios. Este consta de una primera etapa de contaminación donde los parásitos adultos que se alojan en el tracto gastrointestinal de los hospedadores eliminan huevos por medio de la materia fecal y los diseminan en las pasturas, generando así la segunda etapa que es la fase externa o exógena del ciclo, que incluye dos mudas con sus consiguientes estadios larvales L₁, L₂ y L₃.

Las L₃ son infestantes⁴ y son el estado de traslación espacial y temporal más importante de un hospedador a otro. Estas

³ Ciclo biológico de un parásito donde la transmisión se produce siempre entre miembros de un tipo de hospedador y sin hospedadores intermedios o paraténicos.

⁴ Constituyen la última etapa del ciclo biológico fuera del hospedador definitivo, y tienen la capacidad de invadir un ser vivo y multiplicarse en él.

retienen la cutícula del estadio anterior, lo que les otorga gran resistencia a las condiciones ambientales, no se alimenta, abandona la materia fecal, migra hacia el pasto y posteriormente es ingerida por el hospedador. En algunos casos pueden ingresar por vía percutánea como *Bunostomum* spp. (Romero y col., 2001). En ovinos, la vía de entrada es oral característica de los nematodos de la familia Trichostrongylidae. El periodo prepatente oscila entre 14 a 28 días para la mayoría de las especies, menos para *Oesophagostomum* spp. que es de 30 a 40 días y para *Bunostomum* spp. que es de 30 a 64 días (Kauffman, 1996).

Los factores climáticos juegan un rol importante en la fase exógena, aunque de manera diferente en cada especie. Las principales variables climáticas como temperatura, precipitaciones y humedad presentan una influencia importante en la velocidad de desarrollo desde huevo a L₃, que puede oscilar entre 8 hasta más de 60 días, así como también en la supervivencia de las fases de vida libre en el ambiente. Dependiendo de la especie que se trate las L₃ pueden sobrevivir por más de un año en el exterior como *Marshallagia* spp. o *Nematodirus* spp. (Suárez y col., 2007). Pueden desplazarse vertical u horizontalmente, siendo las precipitaciones el principal factor de dispersión de las larvas, desde la materia fecal a la pastura. Las formas de vida libre

comprenden huevo morulado, huevo embrionado, larva de primera fase, larva de segunda fase y larva de tercera fase o infestante, y están fuertemente influenciadas por el ambiente (Tabla 2).

Especie	Fase del ciclo			
	Huevo no embrionado	Huevo embrionado	Larva pre-infectiva	Larva infectiva
<i>H. contortus</i>	Muy susceptible al frío y la desecación. Alta mortalidad por debajo de 10 °C.	Susceptible al frío y la desecación. Eclosión baja por debajo de 10 °C y en ausencia de humedad.	Muy susceptible al frío y la desecación.	Supervivencia óptima en clima cálido y húmedo. Pobre en clima cálido y seco e inviernos bajo cero.
<i>T. colubriformis</i>	Susceptibilidad intermedia al frío y la desecación. Alta mortalidad por debajo de 5 °C.	Susceptibilidad intermedia al frío. Baja susceptibilidad a la desecación.	Susceptible al frío y desecación. Alta mortalidad por debajo de 5 °C.	Supervivencia óptima en climas fríos o cálidos y húmedos. Poca en inviernos bajo cero.
<i>T. circumcincta</i>	Baja susceptibilidad al frío. Alta viabilidad del huevo entre 0 a 10 °C. Susceptibilidad intermedia a la desecación.	Baja susceptibilidad al frío y la desecación. Eclosión por debajo de 5 °C.	Susceptibilidad intermedia al frío. Susceptible a la desecación.	Supervivencia óptima en climas fríos y húmedos e inviernos bajo cero. Poca supervivencia en climas cálidos y secos.

Tabla 2. Características de las influencias ambientales en las fases de vida libre de los principales nematodos en ovinos.

Luego de ser ingeridas, las L₃ penetran en la mucosa gastrointestinal, sufren una última muda y evolucionan a larvas de cuarta fase. A continuación, estas larvas emergen de la mucosa hacia la luz del órgano, para luego madurar y evolucionar en parásitos adultos hembras y machos con capacidad de copular y así cerrar el ciclo eliminando huevos por medio de la materia fecal. Los adultos ubicados en la luz del tracto gastrointestinal pueden vivir entre 1 a 3 meses en promedio.

1.3. Fundamentos bio-epidemiológicos

La dinámica de la relación cuantitativa de parásitos y hospedadores depende de la adaptación de las fases de vida libre de los primeros a las condiciones ambientales a lo largo del año, su potencial biótico, la presencia y abundancia de hospedadores susceptibles y las condiciones de manejo, incluyendo tratamientos antihelmínticos. Estas interrelaciones modelan un equilibrio que dentro de ciertos parámetros se repite en ciclos consecutivos de producción.

Dentro de los nematodos que afectan a los ovinos tenemos principalmente tres especies: *H. contortus*, *T. circumcincta* y *T. colubriformis*. El primero predomina en áreas tropicales y subtropicales y los otros dos en regiones con inviernos fríos,

húmedos y lluvias uniformes (Fiel y col., 1991; Sánchez y Romero, 2005). *T. colubriformis* presenta mayor capacidad de desarrollo a bajas temperaturas y resistencia a la desecación que *H. contortus* (Anderson y col., 1978). En zonas templadas sigue siendo el género dominante, y puede prevalecer en áreas subtropicales más cálidas (Johnstone, 1998; Illanes, 2021) con condiciones similares a las de *H. contortus* (Levine y Todd, 1975). *T. circumcincta* prevalece en zonas templadas más cálidas, y cuando las temperaturas invernales son más suaves, su desarrollo es menos limitado (Fiel y col., 1991). En la zona deprimida del Salado, las mayores cargas de las poblaciones larvarias infecciosas en ovinos se encuentran durante el invierno y principios de primavera, principalmente en corderos de recría (Sánchez y Romero, 2005). El desarrollo recién se ve condicionado a los 0 °C (Pandey y col., 1989).

1.3.1. Hospedador y susceptibilidad

La población de hospedadores regula en gran medida el número de parásitos presentes y la producción de huevos. La inmunidad del hospedador influye directamente en su acumulación, entre otros factores (Brunsdon, 1966; Claerebout y Vercruyse, 2000). Esta inmunidad está influenciada

principalmente por 4 factores: el primero es la categoría o especie, siendo diferentes a lo largo del ciclo productivo, creando condiciones favorables para el parásito (Michel y col., 1976). La inmunidad obtenida por la experiencia inmune en corderos, para *H. contortus*, se logra en torno a los 4 meses de edad, mientras que para los géneros *Ostertagia* spp. y *Trichostrongylus* spp. se logra recién a los 8 meses (Barger y col., 1985). Esta inmunidad adquirida no es sólida y frente a diferentes situaciones del hospedador o el ambiente, puede romperse. El segundo es el estado nutricional y salud, que directa o indirectamente afecta la condición inmunológica del hospedador (Coop y col., 1999). El tercero es el estado fisiológico, que ante determinadas situaciones que generen inmunosupresión como la lactación, favorecen la acumulación de parásitos. (Nari y col., 1977; Fleming y col., 1989). Por último, la genética de los hospedadores, los cuales es posible clasificarlos como susceptibles o resistentes, según la predisposición a acumular y multiplicar parásitos. Existen animales resilientes, que son animales resistentes donde se logran establecer los parásitos, pero que provocan en términos relativos a la media de los animales, menor daño clínico (Albers y col., 1987; Castells, 2002; Zvinorova y col., 2016).

1.3.2. *Haemonchus contortus* como agente etiológico

Haemonchus contortus prevalece en áreas tropicales y subtropicales con temperaturas cálidas y regiones donde predominan los veranos y otoños lluviosos (Gordon, 1948; Levine y Todd, 1975). La aparición en zonas templadas frías es posible dentro del rango de tolerancia a las condiciones climáticas estacionales, y es favorecida por la posibilidad de presentar hipobiosis en la fase de L₄, para extender la etapa parasitaria y atravesar estaciones desfavorables a las fases de vida libre. Este fenómeno fue descrito tiempo atrás en Inglaterra, donde los brotes de haemonchosis eran esporádicos y estaban asociados con largos períodos de inhibición de L₄ y una etapa de vida libre corta (Connan, 1975; Waller y Thomas, 1975).

Fue caracterizado por primera vez en 1803 por Rudolphi⁵. Inicialmente, el parásito se denominó *Strongylus contortus* (Ransom, 1906; Parnell, 1963), sin embargo, no fue hasta la década de 1900 que *H. contortus* se convirtió en la nomenclatura aprobada (Gibbons, 1979) (Tabla 3). Estudios morfológicos permitieron separar y clasificar por características estructurales a machos y hembras adultos (Gibbons, 1979; Jacquiet y col., 1995, 1997; Giudici y col., 1999a; Lichtenfels y col., 1994, 2002).

⁵ Fue el primero en describir a estos nemátodos en *Enterozoorum, Sive Vermium Intestinalium Historia Naturalis* (1808-1810).

Taxón	Nombre
Phylum	Nematoda
Clase	Secernentea
Subclase	Rhabditia
Orden	Strongylida
Superfamilia	Trichostronglyloidea
Familia	Trichostrongylidae
Género	Haemonchus
Especie	<i>H. contortus</i>
Nombre común	“Gusano rojo de cuajo o palo de barbero”

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *H. contortus*

La historia de *H. contortus* es compleja, y aunque se reconoce como un patógeno dominante de ovinos y caprinos domésticos, su origen está vinculado a un conjunto de antílopes en África subsahariana en la era Cenozoica, que se inició hace 66 millones de años y se extiende hasta la actualidad. El movimiento del ganado por los seres humanos ocasionó su distribución alrededor del mundo (Hoberg y col., 2004). Las diferentes zonas climáticas, el cambio constante de los hábitats, la transición ecológica del ambiente y la rotación de la fauna circunscrita en el tiempo, influyeron y definieron las oportunidades para la colonización geográfica, cronológica y del hospedador. En la actualidad es considerado esencialmente ubicuo en pequeños rumiantes en el mundo.

Este parásito es de regular tamaño y puede ser observado a simple vista. El macho adulto tiene un tamaño entre 19 a 22 mm, presenta una bolsa copulatriz utilizada para mantener abierta la abertura genital de la hembra durante el apareamiento formada por tres lóbulos, dos laterales bien desarrollados y uno dorsal pequeño y asimétrico, con un rayo dorsal en forma de letra "Y" donde cada una de las ramas termina en forma bifurcada. Las espículas son relativamente cortas, poseen una protuberancia en forma de gancho cuya distancia a la punta terminal es mayor en la espícula derecha que en la izquierda (Giudici y col., 1999a). Poseen un gubernáculo⁶ que mide 200 μm x 25 μm (Lukovich, 1985).

La hembra adulta mide entre 25 a 34 mm, el útero de color blanco opalino se enrolla en forma helicoidal alrededor del intestino, que le da el característico aspecto de "palo de barbero". La vulva se localiza en el tercio posterior del cuerpo, y puede estar protegida por ensanchamientos cuticulares llamados solapas vulvares. Aquellas hembras que no presentan solapa vulvar se clasifican como lisas, y las restantes dependiendo de la forma que adquieran se clasifican en "botoniforme" o "lengüetiforme". Ambos se caracterizan por el contenido rojizo de su tubo digestivo (Lukovich, 1985).

⁶ Esclerotizaciones accesorias de la pared de la cloaca que sirve de guía a las espículas cuando éstas se extienden.

Las L₃ de *H. contortus* son delgadas de tamaño mediano y miden entre 600 a 805 μm de largo (Tabla 4). Su cavidad bucal es ovalada y presenta una pequeña plaqueta quitinosa de color oscuro. La cola es de tamaño medio con terminación cónica generalmente arrugada que se adelgaza gradualmente terminando en una prolongación filamentosa. Se observan dieciséis células intestinales (Niec, 1968).

	Otros autores	Niec
Largo total	600-805	675-761
Largo de esófago	119-175	90-140
Largo de cola con vaina larval	119-149	124-160
Largo filamento	60-120	67-101

Tabla 4. Medidas mínimas y máximas en micrómetros (μm) de L₃ de *H. contortus*

Los huevos son regulares, grandes, elipsoidales, ligeramente aplanados en los polos y la mórula no llena por completo la cavidad. El rango de tamaño promedio oscila entre 76-81 x 44-46 μm . Las hembras tienen un elevado potencial biótico, siendo capaces de oviponer entre 5.000 a 10.000 huevos/día, lo que resulta en millones de huevos liberados a las pasturas en corto tiempo. En condiciones ideales de temperatura

(31-34 °C) y una humedad relativa superior al 85%, las larvas eclosionan de los huevos en las heces.

En climas cálidos y húmedos favorables, las L₃ pueden sobrevivir en las pasturas hasta un año. Por el contrario, en climas fríos, la supervivencia suele ser de semanas a algunos meses (McKenna, 1998; Sutherland y Scott, 2010). Una vez ingeridas, las L₃ infecciosas se desenvainan en el estómago, penetran en la mucosa del abomaso y mudan a larvas de cuarta fase, que regresan a la luz del abomaso y se convierten en adultos. Las L₄ se distribuyen en mayor medida en el área fúndica anterior y están casi completamente ausentes en la región pilórica. Sin embargo, los adultos se distribuyen en la región fúndica posterior del abomaso más cerca del área pilórica, debido a que seleccionan un sitio de alimentación más propicio, o es un intento por evitar la reacción inmunológica del hospedador por L₃ en etapas anteriores (Dash, 1985). Posteriormente, entre 9 y 12 días después de la infección las L₄ regresan a la luz y mudan una última vez a la fase preadulta para luego convertirse en adultos maduros reproductivos y así finalizar el ciclo de vida. La prepatencia es de 3 semanas.

La fisiopatología de la haemonchosis y los signos clínicos asociados están relacionados principalmente con la anemia, que es el signo clínico patognomónico, que se desarrolla como consecuencia de la actividad del parásito para alimentarse de

sangre (Levine, 1980; Urquhart y col., 1996). La pérdida de sangre comienza con el desarrollo de la cuarta fase larvaria (Mönnig, 1950), y la anemia se detecta por primera vez entre los 10 o 12 días después de la infección (Hunter y McKenzie, 1982). Se estima que los parásitos adultos extraen entre 30 y 50 ml de sangre por día (Dargie y Allonby, 1975). Después de 11 días con una infección con 10.000 larvas infestantes, se produce una pérdida de sangre diaria de 30 ml en ovinos adultos (Albers y Le Jambre, 1983). La severidad de la enfermedad está íntimamente relacionada con el número de larvas que se establecen en el hospedador, debido a que existe una fuerte correlación entre la pérdida de sangre y el número de parásitos adultos (Le Jambre, 1995). Por todo esto, el resultado de la infección por *H. contortus* depende de la tasa de ingestión de las larvas infestantes, la capacidad del hospedador para rechazarlas y la destreza de este para reponer la sangre perdida.

El período prepatente⁷ que oscila entre los 14 y 28 días y el alto potencial biótico con elevada producción de huevos, garantizan la variabilidad genética, permitiendo cambios adaptativos respecto al clima.

Los signos clínicos de la enfermedad dependerán del número de adultos y larvas presentes en el abomaso, y de la variación en

⁷ Tiempo que media entre la ingestión de las larvas infestantes y la detección de los primeros huevos en materia fecal.

la susceptibilidad de cada animal y, hasta cierto punto, de su estado nutricional. Ninguna categoría animal está asociada específicamente, aunque la enfermedad es más común en corderos que no han adquirido inmunidad natural. También es común en ovejas lactantes, principalmente si la temporada de partos coincide con el final de un período de hipobiosis parasitaria. Existe una gran variación entre las razas y su resistencia a la enfermedad con una ventaja significativa para las razas adaptadas (Mugambi y col., 1997). La diarrea no es típica de la haemonchosis, y la materia fecal es firme y escasa, sin embargo, esta parasitosis puede ocurrir al mismo tiempo con infecciones por otros nematodos que si la causan (Eysker y col., 1980).

La haemonchosis ovina se caracteriza por una anemia aguda de origen hemorrágico, debido a la acción hematófaga del parásito adulto que puede ingerir 0,05 ml de sangre por día (Urquhart y col., 1987), por lo que una carga de 5.000 *H. contortus* consumen 250 ml de sangre diarios (Suárez y col., 2007). Esta parasitosis se encuentra asociada de forma negativa con la temperatura, la heliofanía y la evapotranspiración de una región y de forma positiva con la humedad mínima y media (Illanes, 2021).

Es posible clasificar la presentación clínica en:

1. Hiperaguda

Es relativamente rara. Se caracteriza por la muerte súbita de animales aparentemente sanos, debido a la pérdida masiva de

sangre con hasta 30.000 adultos, que causan una gastritis hemorrágica, además de anemia terminal (Dunn, 1978). A la necropsia se observa una gastritis hemorrágica (Urquhart y col., 1987). Se asocia a infecciones con elevada carga parasitaria, derivada de muy altas tasas de contaminación de larvas en el pasto.

2. Aguda

Dos semanas post-infección se presenta la anemia, con una drástica y progresiva caída del hematocrito. La carga parasitaria puede ser de entre 2.000 y 20.000 adultos por animal (Urquhart y col., 1996). En esta fase, el sistema hematopoyético no se encuentra todavía completamente activado, para después estabilizarse por el aumento de la eritropoyesis (Suárez y col., 2007). Sin embargo, el hematocrito vuelve a caer debido al agotamiento y falla de este sistema, como consecuencia de la anorexia y la continua pérdida de hierro y proteínas. A la necropsia, se observan mucosas pálidas y edema en cavidad abdominal y abomaso. El contenido abomasal es color marrón oscuro debido a la sangre, y la mucosa presenta lesiones hemorrágicas en forma de petequias (Angulo-Cubillán y col., 2007).

3. Crónica

Está asociada a una infección con baja pero persistente carga parasitaria. La dieta de los animales es deficitaria y no

puede cubrir las pérdidas de sangre ocasionadas por los parásitos. Los signos clínicos observados son: pérdida progresiva de peso, debilidad, anorexia y anemia (Urquhart y col., 1987). Esta forma es más común en ambientes críticos para el desarrollo de las fases de vida libre con períodos climáticos desfavorables y cuando las medidas de control no son efectivas.

En definitiva, la haemonchosis ovina puede manifestarse en una amplia gama de formas clínicas de acuerdo con el estado inmunológico, fisiológico y nutritivo de los animales o la carga parasitaria que alberguen y se hace más compleja en entornos de resistencia antihelmíntica (Suárez y col., 2007). Por ejemplo, en ovejas de cría con una carga parasitaria baja se observa una pequeña reducción (3%) en el peso vivo en pasturas de buena calidad, que tienden a compensarse cuando apenas mejoran las condiciones de alimentación u ocurren cambios fisiológicos como el destete (Illanes, 2021).

1.3.3. Fases de vida libre de *Haemonchus contortus*

El desarrollo desde huevo no embrionado hasta larva infecciosa abarca una serie de etapas de vida libre y procesos individuales pre-infecciosos (Silverman y col., 1959; Levine y Todd, 1975; Todd y col., 1976) que pueden dividirse en dos procesos principales: desarrollo a larva infecciosa con posterior

migración y supervivencia larvaria (Levine, 1963). La temperatura, la humedad y las precipitaciones son los principales factores que determinan la tasa de éxito y la velocidad de desarrollo de las fases de vida libre.

El desarrollo óptimo de las L₃ ocurre con una humedad superior a 70% en la materia fecal y una temperatura de 23 °C (Rossanigo y Gruner, 1995). Sin embargo, estos resultados son difíciles de relacionar con la influencia de las precipitaciones y el momento de la deposición fecal. Los huevos de *H. contortus* pueden sobrevivir en condiciones secas en el campo, pero cuando la humedad en la materia fecal es <5% dentro de las 48 horas posteriores a la deposición, solo el 6% de los huevos se mantienen viables (Berbigier y col. 1990).

Es posible afirmar que el tiempo requerido para la eclosión de los huevos, el desarrollo de las fases de vida libre y la tasa de éxito está fuertemente regulado por la temperatura. Las características principales y sus efectos para este desarrollo son:

1. Efecto de la temperatura

En *H. contortus*, el estadio más susceptible al frío en las fases de vida libre son los huevos no embrionados, seguido de las L₂, las L₁, los huevos embrionados y por último las L₃ (Todd y col., 1976). Una pequeña proporción de huevos embrionados es capaz de sobrevivir a temperaturas de aproximadamente 2,2 a 1,1 °C

durante un máximo de 2 meses (Silverman y col., 1959). Cuando la temperatura mínima excede los 10 °C y la máxima oscila alrededor de los 18 °C, los huevos pueden sobrevivir hasta 5 días viables después de la deposición. La eclosión es rápida a altas temperaturas 14-16 horas a 37 °C (Berberian y col, 1957), aunque es poca o nula a 40 °C (Todd y col., 1976). El porcentaje de eclosión varía entre el 50% a 18 °C y del 100% a 21 °C (Barger y col., 1972). A 20-25 °C con una humedad relativa del 100%, las larvas tardan un mínimo de 3 y 4 días en completar su desarrollo (Levine y Todd, 1975). A 8-10 °C es posible encontrar larvas de primer estadio entre los días 5 y 18 (Berberian y col., 1957) pero ninguna a 7,2 °C (Silverman y col., 1959). En zonas tropicales húmedas las L₃ aparecen después de 11 días a 11 °C, 5 días a 21 °C y 3 días a 37 °C. Una mortalidad mínima y un desarrollo óptimo ocurren en el rango de 20-30 °C en la mayoría de los nematodos de los rumiantes, siempre que la humedad no sea una limitante. En condiciones de laboratorio con humedad y temperatura controladas entre los 0 °C y 35 °C, y una humedad relativa entre 70 y 100% (media de 85%), el porcentaje máximo de eclosión es de 45% a una temperatura de 25° C en un tiempo de 13 días desde la eliminación de los huevos, y el mínimo es de 1% con una temperatura igual o menor a 10° C a los 19 días (Coyne y col., 1992) (Fig. 3).

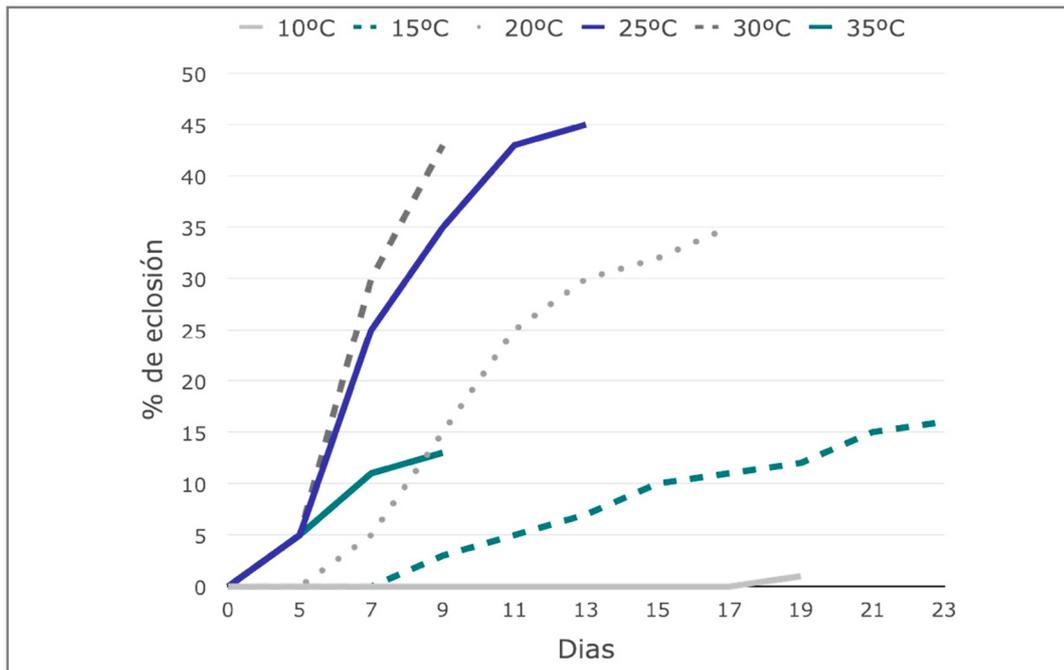


Figura 3. Curva de los diferentes porcentajes de eclosión a diferentes temperaturas en condiciones de laboratorio (Coyne y col., 1992)

2. Efecto del microclima en la pastura

La distribución de las precipitaciones, la evaporación, la humedad, el almacenaje de agua en el suelo y las condiciones de las pasturas son determinantes en el desarrollo de *H. contortus*. El porcentaje de larvas recién nacidas que se desarrollan con éxito hasta L₃, dependen del tiempo que tardan las precipitaciones en superar la evaporación acumulada. Si esto ocurre dentro de un período de 1 semana, el 90% de L₁ se desarrolla hasta L₃, mientras que disminuye al 50% si las precipitaciones tardan 3 semanas en superar la evaporación (Barger y col., 1972). Las condiciones óptimas para la eclosión de los huevos y desarrollo de

H. contortus es cuando las precipitaciones efectivas durante siete días consecutivos mayores a 16 mm, exceden a la evaporación acumulada en al menos 3 mm durante los primeros dos días después de la deposición fecal y la temperatura del aire es de 16° C o más (Barnes y col., 1988).

Una evaluación visual del verde de las pasturas puede usarse como un indicador cualitativo de la disponibilidad de la humedad para una población en las fases de vida libre (Besier y col., 1993). El riego en pasturas con heces contaminadas aumenta el contenido de agua del suelo, la humedad del aire y favorece la migración de las L₃ (Gruner y col., 1993; Uriarte y Gruner, 1994). Los efectos de la humedad y las condiciones microclimáticas influyen en la velocidad y éxito en la transición de huevo a larva infecciosa y en conjunto con datos cuantitativos del desarrollo de las fases de vida libre, pueden proporcionar un enfoque diferente en respuesta a las condiciones macroclimáticas⁸.

3. Efecto de la desecación

Al igual que la temperatura, la susceptibilidad a la desecación es un factor importante en la supervivencia de las fases de vida libre y presenta diferencias entre especies. La baja resistencia a la deshidratación que predomina en zonas con

⁸ Condiciones climáticas que abarcan una gran extensión o región, generalmente mayor a 300 km.

veranos cálidos y húmedos es característica de *H. contortus*. En climas tropicales secos, el secado de la materia fecal se produce rápidamente después de la deposición. La humedad fecal cae por debajo del 5% después de 48 horas, con temperaturas mínimas diarias del aire de 21 °C y sin precipitaciones. En dicho periodo y en esas condiciones, el 6% de los huevos de *H. contortus* conservan su viabilidad, en comparación con el 36% de los huevos de *T. colubriformis* (Berbigier y col., 1990). Sin embargo, en condiciones de baja evaporación y temperaturas máximas más bajas, la humedad fecal en el momento de la deposición permite la eclosión de algunos huevos. Una masa fecal desecada funciona como reservorio de larvas infecciosas, con una posterior liberación masiva después de alguna precipitación (Amaradasa y col., 2010). Es evidente que las larvas infecciosas pueden permanecer dentro o en la superficie del suelo, así como en la vegetación, proporcionando un potencial reservorio (Amaradasa y col., 2010; Van Dijk y col., 2011). Las L₃ de *H. contortus* tienen la capacidad de tolerar la desecación en la materia fecal seca, aunque en cortos períodos de tiempo (Berbigier y col., 1990). En ausencia de lluvia, con humedad relativa moderada y contenido de humedad fecal baja, en un periodo de 8 días, no se produce la migración de las L₃ (Rossanigo y Gruner, 1995).

La migración de las larvas infecciosas es el paso final en la ecología de las fases de vida libre. El movimiento lateral desde la materia fecal y el vertical hacia el pasto, son esenciales en esta fase y están sujetos a características de comportamiento específicas (Van Dijk y col., 2011). Cuando las reservas de energía son adecuadas y la humedad y la temperatura lo permitan, el movimiento será direccional y al azar (Crofton, 1954). Siempre que los factores microclimáticos se encuentren en el rango óptimo para la supervivencia, la humedad determina la velocidad y la distancia de la migración. A temperaturas de 25 - 27° C y una humedad relativa de 30-50%, las larvas infecciosas migran de la materia fecal dentro de las 24 horas después de completar su desarrollo (Crofton, 1948; Van Dijk y col., 2011). Durante los meses más cálidos se presenta un rápido agotamiento de entre 2 a 4 semanas de las larvas en las pasturas, aunque pequeñas cantidades continúan migrando durante más de 4 meses en condiciones más frías (Rose, 1964). La migración de las larvas a las pasturas aumenta cuando hay precipitaciones, y tal aumento es directamente proporcional a la intensidad y frecuencia de éstas (Catto, 1982).

El movimiento de las L₃ de los nematodos está facilitado por una película de humedad en el pasto brindada por la lluvia o el rocío. Cuando la humedad no es un factor limitante, la

temperatura ejerce una mayor influencia sobre la migración (Stromberg, 1997). Es sabido que las tasas de migración de las L₃ y desarrollo de los nematodos aumentan con la temperatura (Levine y Todd, 1975), así como de la materia verde que les proporciona un entorno favorable (Barger y col., 1972). La migración de *H. contortus* en climas templados se produce en un período de 3 semanas después de la eclosión (Donald, 1968), sin embargo, en algunas ocasiones se produce una rápida migración al pasto desde la materia fecal una vez que se completa el desarrollo (Gibson y col., 1976).

En la migración lateral de *H. contortus* en las pasturas, más del 90% de las larvas infecciosas se mueven dentro de los 5 cm desde la materia fecal y muy pocas más allá de los 20 cm (Crofton, 1948). La migración se interrumpe principalmente cuando el clima es cálido y seco (Skinner y col., 1980). La altura del pasto al retener humedad influye en la migración larvaria (Amaradasa y col., 2010). Una humedad relativa alta, ya sea por precipitaciones, rocío, niebla, etc., es suficiente para la migración larval (Van Dijk y col., 2011). En las primeras horas de la mañana la recuperación de larvas es más alta, debido a la disponibilidad de humedad por el rocío o porque la humedad relativa es alta en ese momento, antes de que la temperatura aumente durante el día (Rees, 1950; Aumont y col., 1989).

En la migración vertical de las larvas infecciosas en las pasturas, la hora del día tiene poca influencia (Krecek y col., 1991), aunque, el número medio máximo de larvas se da en la mañana, mientras que el número mínimo se da en la tarde (Chaudary y col., 2008). Las L₃ tienen la capacidad de sobrevivir a ciclos repetidos de desecación y rehidratación sin efectos deletéreos significativos (Lettini y col., 2006). Cuando las L₃ son sometidas a condiciones de humedad continua se mantienen activas, esto hace que desperdicien sus recursos energéticos con mayor rapidez, lo que las conduce a la muerte en unas semanas. Sin embargo, en condiciones secas se deshidratan y se vuelven inactivas, es decir, entran en anhidrobiosis y se mantienen viables durante largos períodos de tiempo en la pastura. No obstante, es importante remarcar que la humedad es esencial para el desarrollo de los huevos hasta el tercer estadio larvario (O'Connor y col., 2006). En las épocas donde las precipitaciones son abundantes luego de la deposición fecal en las pasturas, la migración larval desde la materia fecal se ve favorecida. En estas condiciones donde se mantiene la humedad, la recuperación de las larvas es exclusivamente desde la pastura, sin embargo, en la ausencia de las precipitaciones, las larvas se recuperan principalmente del suelo y la materia fecal restante (Bullick y Andersen, 1978). Se necesita agua generalmente en forma de

lluvia para que las L₃ migren fuera de la materia fecal. La lluvia ligera es insuficiente para estimular la migración, sin embargo, las intensas producen el movimiento de las L₃. Siempre que el contenido de humedad fecal sea mantenido por las lluvias, y estas sean suficientes, la tasa de migración aumentará significativamente. Entre 25 a 27° C y escasas precipitaciones, aproximadamente el 40% de las L₃ abandonan la materia fecal (Wang y col., 2014). En general, la epidemiología de *H. contortus* depende significativamente de la situación microclimática a corto plazo, más que de la variación del clima a largo plazo, por lo que el nivel de L₃ en las pasturas puede modificarse en pocos días (Agyei, 1997). Dado que el agua libre no es necesaria para el movimiento vertical, al menos en condiciones de humedad relativa moderada (Van Dijk y col., 2011), la correlación positiva entre la cantidad de L₃ liberadas a las pasturas y el agua libre se da principalmente por la liberación de éstas desde la materia fecal.

Las L₃ son la fase de vida libre más resistente a las temperaturas extremas y la desecación (Barger y col., 1972). La supervivencia de las larvas infecciosas es mayor a temperaturas más frías con niveles altos de humedad relativa. La tasa de supervivencia presenta una forma de desintegración exponencial (Barger y col., 1972), en la cual se observa una caída rápida inicial

de la contaminación seguida de una cola prolongada (Leathwick y col., 1992).

Según Leathwick y col. (1992), el 50% de la población larvaria infecciosa inicial en las pasturas permanece después de 31 días. Barger y col. (1972) estima una semivida poblacional de 93 días con 85% de humedad relativa y 12 °C, 9 días con 35% de humedad relativa y 28 °C y 9 días también con 65% de humedad relativa y 20 °C (Fig. 4).

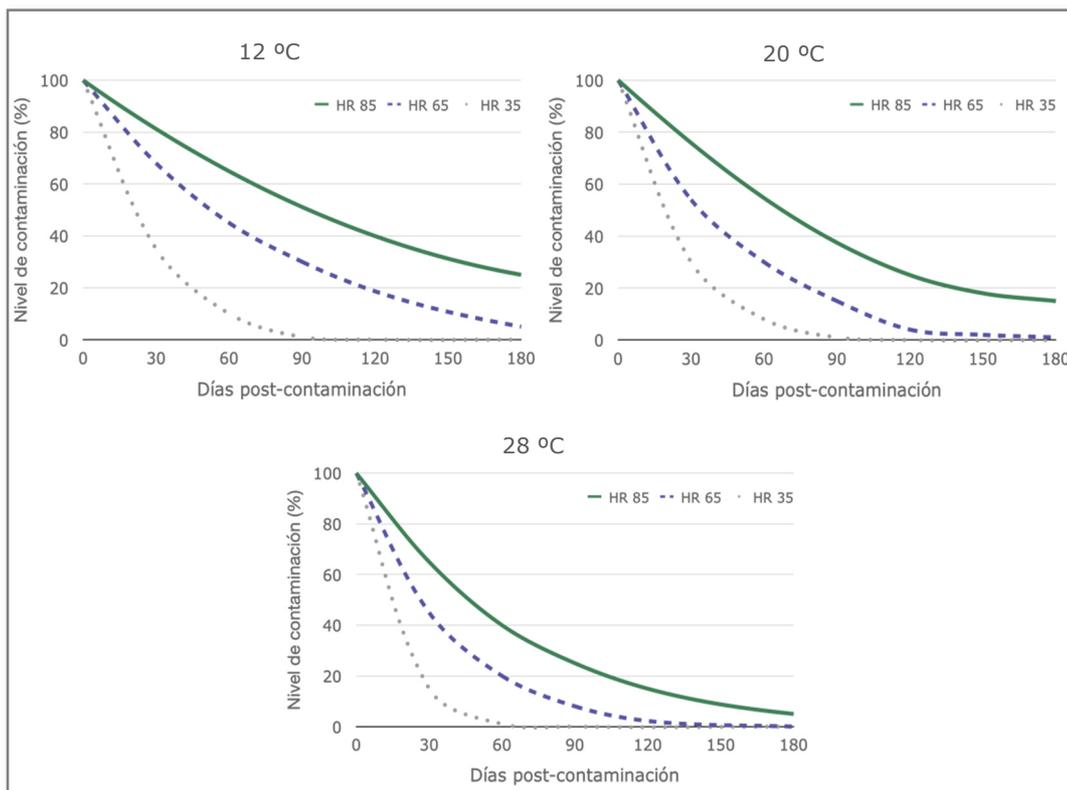


Figura 4. Curvas de supervivencia de L₃ de *H. contortus* bajo diferentes rangos de temperatura y humedad relativa.

Adaptado de Barger y col., 1972.

La capacidad de las L₃ para resistir las temperaturas frías en condiciones naturales facilita la supervivencia de las poblaciones de vida libre en el invierno. En las regiones con lluvias de verano las L₃ de *H. contortus* desarrolladas a partir de huevos depositados a fines del verano y principios del otoño, pueden sobrevivir durante todo el invierno manteniendo su infectividad para la ingestión en primavera (Southcott y col., 1976; Anderson y col., 1978). En regiones con lluvias invernales, la supervivencia de las L₃ de *H. contortus* en las pasturas desde finales de otoño hasta mediados de primavera se correlaciona con el porcentaje de humedad disponible y las bajas temperaturas (Besier y col., 1993). Un verano típicamente seco crea una barrera eficaz para el desarrollo y supervivencia de las L₃ de *H. contortus* (Besier y col., 1993) convirtiéndose en un evento estacional óptimo de descontaminación de las pasturas (Southcott y col., 1976). En regiones tropicales húmedas, solo el 10% de la población de larvas infecciosas en las pasturas de *H. contortus* sobreviven después de 4 a 7 semanas (Banks y col., 1990). Con la disponibilidad de suficiente humedad, las larvas infecciosas pueden sobrevivir largos períodos de tiempo a bajas temperaturas y condiciones climáticas moderadamente secas. Lo contrario ocurre en condiciones más cálidas y húmedas donde los períodos de infectividad en las pasturas son relativamente más cortos, debido

al rápido agotamiento de las L₃ en el suelo y los reservorios en la materia fecal (Morley y col., 1980).

Cada especie parasitaria necesita diferentes grados de temperatura y humedad para su óptimo desarrollo. *H. contortus* se ve favorecido por el clima templado cálido y su desarrollo se ve condicionado por debajo de los 11 °C (Levine y Todd, 1975). Las pasturas de leguminosas y gramíneas crean un microambiente favorable, debido a que brindan protección a las L₃, por el contrario, la labranza de la tierra las deja expuestas a la desecación. La principal protección de las fases de vida libre es la materia fecal, que les ofrece las condiciones de humedad y temperatura necesarias para su desarrollo inicial y posterior supervivencia, sin embargo, ciertos hongos presentes en la materia fecal y el suelo pueden actuar de manera desfavorable, ya que destruyen dichas larvas (Saumell y col., 2000).

En otoño las condiciones climáticas como la temperatura y la humedad ambiental son favorables para la supervivencia de las L₃ y estas pueden llegar a sobrevivir por más tiempo (Suárez, 1985). En el caso de los ovinos, el comportamiento y el manejo de éstos favorece la contaminación y la dispersión, ya que el pisoteo de los animales en el pastoreo destruye la materia fecal y disemina las L₃ en las pasturas. Altas cargas obligan a los animales a cambiar sus hábitos de pastoreo presionándolos a comer cerca

de la materia fecal y el suelo, favoreciendo la ingestión de las larvas. La restricción de pasto propia del invierno favorece el riesgo de infestación, mientras que la sobreoferta en la primavera disminuye este riesgo (Suárez y col., 2007). El tiempo de vida de las fases de vida libre, está limitado al lapso transcurrido entre la contaminación y el inicio del verano, alcanzando así un máximo de 7 meses en contaminaciones realizadas en otoño, dado que las condiciones estivales serían las responsables de la mortandad de estas fases larvarias (Pereira y col., 2006). Se debe tener en cuenta que la materia fecal de los ovinos se deseca rápidamente debido al tamaño y menor contenido acuoso de la misma, disminuyendo así el tiempo que actúa como reservorio de las fases de vida libre (Fiel y col., 2013).

Por otro lado, *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. y *Teladorsagia* spp. han evolucionado un mecanismo adaptativo de detención del desarrollo, denominado hipobiosis⁹, para sobrevivir a condiciones ambientales adversas, como el frío del invierno o el calor del verano y así garantizar su supervivencia (Bowman y Georgi, 2009). Existen dos tipos de desarrollo detenido en los nematodos gastrointestinales. El primero se denomina detención

⁹ Cese temporal en un punto preciso y temprano del desarrollo de los nematodos, con un elemento facultativo, que ocurre solo en ciertos hospedadores, en ciertas circunstancias o en ciertas épocas del año y que afecta solo a una parte de estos (Michel, 1974).

inmunomediada, y es provocada por factores relacionados con el hospedador o con los parásitos en cualquier época del año. El segundo se denomina detención inducida estacional y generalmente ocurre en la misma época cada año. Este ocurre cuando el medio ambiente se torna desfavorable para la supervivencia y se establece una estrategia para resistir dentro del hospedador. Este tipo de hipobiosis es provocado por un estímulo ambiental externo y parece ser la forma predominante de hipobiosis en *H. contortus* (Gibbs, 1986). Existen factores que pueden actuar en combinación o por separado, para provocar L₄ hipobióticas. Estos factores pueden ser: a) relacionados con el hospedador, como la inmunidad adquirida y la edad; b) relacionados con los parásitos, incluida la densidad poblacional y la predisposición genética; y c) factores ambientales, como temperatura, humedad y duración del fotoperiodo (Gibbs, 1982; Fiel y col., 2009).

Es más probable que los factores ambientales sean los desencadenantes involucrados, debido a que las L₄ hipobióticas parecen ser más estacionales. La hipobiosis del *H. contortus* es similar al fenómeno del desarrollo detenido (diapausa¹⁰) en los

¹⁰ Estado de inactividad en el desarrollo inducido por factores ambientales y se considera controlado genéticamente.

insectos. Esta inactividad es temporalmente irreversible y puede continuar hasta que se presente un estímulo específico o haya transcurrido un período de tiempo predeterminado (Sommerville y col., 2002). Las L₄ de *H. contortus* pueden experimentar un estado de desarrollo detenido, permaneciendo en la mucosa del abomaso de forma latente o metabólicamente inactiva, durante 3 a 4 meses, tiempo en el que reanudan su desarrollo. El final de la hipobiosis coincide con cambios en el clima, cuando el ambiente vuelve a ser propicio para el desarrollo y la supervivencia de las fases de vida libre (Nari y col., 1987; O'Connor, 2006).

En Uruguay, *H. contortus* presenta un período de hipobiosis entre marzo y septiembre (otoño-invierno), con valores de hasta el 50% de la carga parasitaria (Castells y col., 2011). En Argentina, en La Pampa, la hipobiosis se presenta entre enero y junio con valores entre 20 y 75% (Suárez, 1985; 1986). En la provincia de Buenos Aires, el alcance de la hipobiosis es menor y en un período más concreto, entre mayo y junio con un valor de 40% (Sánchez y Romero, 2005). En la provincia de Corrientes, la magnitud de la hipobiosis en *H. contortus* es muy baja, siendo inferior al 5% (Illanes, 2021). A pesar de los resultados de estos autores, es probable que los adultos logren sobrevivir en condiciones climáticas desfavorables como adultos sin hipobiosis

(Capitini y col., 1990). Resulta importante en estudios de supervivencia de larvas, estimar estacionalmente la tendencia que adquieren o no a entrar en hipobiosis.

1.3.4. Características del ambiente

Las diferencias climáticas estacionales, las precipitaciones y el manejo condicionan el número de larvas infestantes de nematodos en las pasturas. El nivel de larvas infestantes depende del grado de desarrollo de los huevos eliminados al ambiente, su tasa de mortalidad, la tasa de degradación de la materia fecal y la desecación ambiental, todo esto directamente relacionado con cada especie y cada estadio. La mayor densidad de larvas en las pasturas se encuentra por debajo de los 15 cm a partir del suelo, y a menor disponibilidad y altura del pasto, mayor es la infección en los animales (Suárez y col., 2007). La temperatura y humedad influyen sobre los parásitos en diferente grado. El huevo embrionado y la larva infestante son los estadios más resistentes (Andersen y Levine, 1968). Cada especie presenta su óptimo desarrollo bajo diferentes grados de temperatura y humedad. La principal protección de las fases de vida libre es la materia fecal, que les ofrece condiciones de humedad y temperatura necesarias para su desarrollo y posterior supervivencia. La materia fecal de los ovinos en forma de pequeñas boñigas redondeadas brinda baja

protección a aquellos estadios de vida libre, que dependen principalmente del volumen de agua y de la temperatura de estas para su desarrollo, en comparación con la forma de la materia fecal de los bovinos (Mauleon y Gruner, 1984).

A nivel del suelo existe un microclima¹¹, que está determinado por factores físicos como la cobertura vegetal y el tipo de suelo, que brindan las condiciones necesarias para resguardar a los parásitos de la desecación, influyendo directamente en su supervivencia (Rossanigo y Gruner, 1995).

La migración de las L₃ puede dividirse en activa y pasiva, donde la primera es un desplazamiento vertical u horizontal a favor del gradiente de humedad propio de los parásitos, y la segunda son los factores físicos, como las precipitaciones, que ayudan al humedecimiento y destrucción de la materia fecal, además de dispersar las L₃ junto con el viento, por medio de las gotas hasta más de un metro de distancia (Gruner y col., 1982). En la materia fecal eliminada durante el otoño, las L₃ pueden sobrevivir por más tiempo en las pasturas, probablemente debido a la humedad ambiente elevada propia de la estación (Suárez, 1985).

¹¹ Conjunto de factores atmosféricos que caracterizan a un entorno o ámbito reducido.

1.3.5. Parámetros y modelos climáticos

El clima característico de una región se denomina topoclima y por lo general tiende a repetirse con regularidad en ciclos anuales. Debido a que el clima sufre cambios de forma natural, se estudia en periodos relativamente largos de 30 años y en conjunto con la vegetación que crece en una zona, se usa para definir un tipo de clima.

Existen parámetros que influyen y definen el estado del clima. Estos factores pueden ser geográficos (ubicación, altura sobre el nivel del mar y latitud), ambientales y zonales. Este último se basa en aspectos meteorológicos, como el sistema de Köppen, que se clasifica en tres zonas: cálidas (zona tropical), templadas (zona subtropical) y frías (zona polar). Este sistema se basa en la clasificación cuantitativa del clima de la Tierra desarrollado por Wladimir Köppen¹² en 1900 (Kottek y col. 2006). Se basa en cinco grupos de vegetación determinados por el botánico francés De Candolle (Sanderson, 1999), que distinguen entre plantas de la zona ecuatorial (A), la zona árida (B), la zona templada cálida (C), la zona de nieve (D) y la zona polar (E), y una segunda letra que considera el ciclo anual de precipitaciones

¹² Geógrafo, meteorólogo, climatólogo y botánico ruso de origen alemán, que elaboró el sistema de clasificación climática de Köppen que con modificaciones continúa empleándose hoy en día para agrupar los climas.

y la temperatura media anual en °C. Para la realización de modelos climáticos se han desarrollado varias clasificaciones basadas en el enfoque original de Köppen, pero con algunas modificaciones. Entre las más utilizadas están el sistema Köppen-Geiger (Köppen, 1936; Geiger, 1954) o la modificación Köppen-Trewartha (Trewartha, 1980).

Para el estudio de los factores climáticos en el tiempo se usan climogramas y bioclimatogramas. Un climograma es un gráfico que resume las características climáticas principales de una determinada región que representa los comportamientos de la temperatura y las precipitaciones en un periodo de tiempo. Los bioclimatogramas son representaciones gráficas de las precipitaciones y la temperatura, unidos por una curva cerrada. Se construyen en un diagrama cartesiano donde en el eje X se indican las precipitaciones mensuales y en el eje Y las temperaturas medias. Se indican los puntos de ocurrencia de ambas variables para cada mes del año y se señalan los valores umbrales para el desarrollo de la fase externa de las especies a analizar (Romero y col., 2001). Las regiones de clima cálido y húmedo como el sur de la provincia de Corrientes favorecen las fases de vida libre con el consecuente incremento de la infectividad en las pasturas, permitiéndole así el desarrollo y dispersión durante todo el año.

1.4. Control parasitario basado en fármacos

La principal estrategia para el control de las infecciones por parásitos gastrointestinales en ovinos está basada en el uso de seis grupos químicos de antihelmínticos, sin considerar compuestos más antiguos que ya no se emplean. Estos grupos son bencimidazoles, imidazotiazoles y tetrahidropirimidinas, lactonas macrocíclicas, organofosforados, salicinanilidas y derivados de aminoacetonitrilo. Los más utilizados son ivermectina, fenbendazol, levamisol, moxidectina, y en los últimos años el monepantel.

El mecanismo de acción de los bencimidazoles está relacionado con la inhibición de la polimerización de la B-tubulina para formar microtúbulos. Requiere de un tiempo prolongado de acción para lograr una buena efectividad. En la mayoría de las áreas endémicas de *H. contortus* se presenta resistencia a los bencimidazoles, y por lo general se utilizan en combinación con otros fármacos, para mejorar su eficacia.

Los imidazotiazoles y las tetrahidropirimidinas comparten su mecanismo de acción. Ambos son agonistas nicotínicos que producen parálisis espástica y facilitan la expulsión del parásito vivo (Martin, 1997). El levamisol es el más utilizado en pequeños rumiantes, aunque el morantel todavía está disponible en algunos países para su uso en ovinos. Actualmente *H. contortus* ha

permanecido susceptible al levamisol durante un período más largo que a otros antihelmínticos (Playford y col., 2014).

El mecanismo de acción de las lactonas macrocíclicas es la interrupción de la transmisión nerviosa al potenciar los canales de cloro activados por glutamato, causando parálisis de la musculatura faríngea y somática de los parásitos ocasionando la muerte y desprendimiento de éstos (Martin, 1997). Dentro de este grupo existen diferencias farmacológicas entre las avermectinas, milbemicina y moxidectina, con implicaciones en la posible aparición de resistencia (Lloberas y col., 2013). La moxidectina es más eficaz que otras lactonas macrocíclicas una vez que aparece la resistencia en este grupo químico, incluyendo la abamectina contra *H. contortus* (Lloberas, 2018).

Los organofosforados orales son el grupo antihelmíntico más antiguo y que actualmente sigue usándose en países donde todavía está disponible (Campbell y col., 1978). Incluye naftalofos, triclorfón y piraclifos que es un producto combinado. Actúan inhibiendo la actividad de la acetilcolinesterasa, produciendo parálisis espástica (Martin, 1997). Son potencialmente tóxicos para los mamíferos en dosis cercanas a la terapéutica, por lo que se requiere precaución para su administración y manipulación. *H. contortus* es más sensible a estos compuestos (Fiel y col., 2011), sin embargo, es menos

efectivo contra otros nematodos y especialmente contra las fases de vida libre de algunas especies.

El grupo de las salicinanilidas comprende una serie de compuestos que actúan inhibiendo el metabolismo energético, despolarizando la placa neuromuscular, produciendo parálisis espástica del parásito (Martin, 1997). Los más importantes son closantel, rafoxanida, disofenol y nitroxinilo, que además de tener eficacia contra nematodos, son eficaces contra cestodos y trematodos. Son de particular importancia en nematodos hematófagos como *H. contortus* ya que se mantienen ligados a proteínas plasmáticas y tienen una actividad prolongada de algunas semanas después de la administración (Hall y col., 1981).

Desde la aparición de la ivermectina, transcurrieron casi 30 años¹³ para que en el año 2009 una nueva clase de fármacos antihelmínticos llegara al mercado. El monepantel, miembro del grupo de los derivados de aminoacetonitrilo se introdujo ese año, con un modo de acción único contra los receptores nicotínicos de acetilcolina y un amplio espectro de actividad, similar al de las

¹³ En 1981 la ivermectina es comercializada como una droga antiparasitaria para uso veterinario. En la época llegó a ser la droga antiparasitaria más efectiva y la de más amplio espectro jamás desarrollada.

lactonas macrocíclicas (Hosking y col., 2010). Su uso está aprobado tanto para para bovinos como para ovinos.

El derquantel es el primer miembro del grupo de los espiroindoles (Little y col., 2010), que actúa como antagonista colinérgico nicotínico. Se produce para uso comercial en combinación con abamectina, una lactona macrocíclica. Esta combinación presenta alta eficacia contra poblaciones de nematodos en ovinos resistentes a antihelmínticos ya conocidos (Little y col., 2010).

1.5. Resistencia antihelmíntica

La resistencia antihelmíntica puede definirse como un cambio genético hereditario en una población, que permite que algunos individuos sobrevivan a tratamientos farmacológicos en poblaciones de nematodos que por lo general son eficaces o lo eran cuando el fármaco tuvo contacto por primera vez (Coles y col., 1992). La World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) dice que la resistencia está presente en una población, si la reducción porcentual en el recuento de huevos después del tratamiento farmacológico es menor al 95%, según el resultado obtenido en un test de reducción de conteo de huevos (TRCH). En términos prácticos, la resistencia antihelmíntica está presente en una población cuando

la eficacia del fármaco cae por debajo de lo que se espera históricamente.

Los nematodos presentan características biológicas y genéticas como ciclos de vida cortos, altas tasas de reproducción, rápidas tasas de evolución y tamaños de población muy grandes que crean un alto nivel de diversidad genética, que favorecen el desarrollo de resistencia a los fármacos. La aparición de la resistencia en una población es un proceso lento y gradual, por lo general de años, que requiere numerosas generaciones para la selección. Es posible hablar de dos fases, una primera genética, que se desarrolla lentamente en el tiempo y es imposible de detectar, y una segunda que aparece rápidamente y se percibe como un evento clínico. Esta última puede pasar de niveles indetectables a niveles clínicamente importantes en corto tiempo.

Los primeros casos de resistencia fueron reportados a fines de la década de 1950, con resistencia de *H. contortus* a la fenotiazina (Drudge y col., 1957). Poco tiempo después del lanzamiento de los bencimidazoles al mercado, nuevamente *H. contortus* fue el primero en desarrollar resistencia (Conway, 1964; Drudge y col., 1964), situación que luego se repitió con las lactonas macrocíclicas (Conder y Campbell, 1995). Actualmente ha desarrollado resistencia a todas las clases de fármacos antihelmínticos utilizados (Tabla 5).

Grupo	Fármaco	Año	Reporte de resistencia	País		
Bencimidazoles	Tiabendazol	1961	Drudge y col. 1964	EEUU		
			Smeal y col. 1968	Australia		
			Berger 1975	Suráfrica		
			Le Jambre y col. 1976	Australia		
	Parbendazol	1966	Berger 1975	Suráfrica		
	Fenbendazol	1971	Berger 1975	Suráfrica		
	Albendazol	1979	Gunawan y col. 1979	Australia		
			Eddi y col. 1996	Argentina		
	Oxfendazol	1975	Webb and McCully 1979	Australia		
			Guinan and Kieran 1980	Australia		
				Entrocasso y col. 1988	Argentina	
				Romero y col. 1992	Argentina	
Mebendazol				1971	Berger 1975	Suráfrica
Hall y col. 1978				Australia		
Salicinánilidas	Rafoxanida	-	Van Wyk and Gerber 1980	Suráfrica		
	Closantel	1982	Van Wyk y col. 1982	Suráfrica		
			Rolfe y col. 1990	Australia		
Organofosforados	Naftalofos	1960	Green y col. 1981	Australia		
			Romero y col. 1998	Argentina		
Imidazotiazoles	Levamisol	1965	Green y col. 1981	Australia		
			Eddi y col. 1996	Argentina		
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina	1981	Carmichael y col. 1987	Suráfrica		
			Van Wyk and Malan 1988	Suráfrica		
			Eschevarria 1989	Brasil		
			Craig and Miller 1990	EEUU		
			Le Jambre 1993	Australia		
			Eddi y col. 1996	Argentina		
	Abamectina	1985	Wooster y col. 2001	Australia		
	Moxidectina	1992	Vickers y col. 2001	Nueva Zelanda		
			Love y col. 2003	Australia		
	Doramectina	1993	Terrill y col. 2001	EEUU		
			Borgsteede y col. 2007	Holanda		
Eprinomectina	1996	Scheuuerle y col. 2009	Suiza			
Derivados amino-acetonitrilos	Monepantel	2009	Mederos y col. 2014	Uruguay		
			2015	Van den Brom y col. 2015	Holanda	
			2018	Illanes y col. 2018	Argentina	

Tabla 5. Historia del desarrollo de la resistencia en *H. contortus*.

Hoy en día el control de los parásitos gastrointestinales mediante el uso de antihelmínticos es insostenible, convirtiéndose en un problema grave y que empeora rápidamente. En Estados Unidos el 98% de los establecimientos presentan cepas de *H. contortus* resistentes a los bencimidazoles, 54% al levamisol, 76% a la ivermectina y 47% a la moxidectina (Howell y col., 2008), situación que se extrapola a la mayoría de las regiones del mundo. Se ha comprobado que cuando aparece resistencia a un fármaco de un grupo químico, posteriormente se presenta en todo el grupo (Molento y col., 1999). En la década de 1990, la prevalencia de la resistencia aumentó de 0 a 50% en menos de 8 años (Abbott y col., 1995).

Dos aspectos deben ser tenidos en cuenta para comprender los mecanismos de resistencia (Sarai y col., 2015). En primer lugar, los muestreos aislados no son representativos de la resistencia presente en un establecimiento, y, en segundo lugar, las diferencias en la genética y la presión de selección impuesta bajo protocolos de tratamientos diferentes, así como las condiciones ambientales y de manejo, pueden generar resistencia, ya que ocasionan cambios en los genes y en los mecanismos de adaptación (Chaudhry y col., 2015; Kotze y col., 2016).

La capacidad para controlar los parásitos gastrointestinales se hizo más difícil durante la década de 1990 y principios del 2000,

debido a la aparición de resistencia a tres o más grupos de medicamentos antihelmínticos (van Wyk y col., 1990; Eddi y col., 1996; Nari y col., 1996; van Wyk y col., 1997, 2001; McKenna, 2010). Recientemente gran cantidad de artículos han descripto la aparición de resistencia de *H. contortus* en diferentes regiones del mundo, Papadopoulos y col. (2001) en Europa; Veríssimo y col. (2012) en América del Sur; Falzon y col. (2013) en Norteamérica; Tsotetsi y col. (2013) en Sudáfrica; Playford y col. (2014) en Australia; Chandra y col. (2015) en Asia y Kotze y col. (2016) de nuevo en Australia.

En la región, Uruguay presenta un 92% de los campos con algún nivel de resistencia a lactonas macrocíclicas, bencimidazoles y closantel, con *Haemonchus* spp. Como el principal género involucrado (Bonino Morlán, 2002; Castells y col., 2011). En Brasil, se ha reportado resistencia múltiple a todos los principios activos en la mayoría de los estados (Echevarria y col., 1996; Ramos y col., 2002; Almeida y col., 2010). En el estado de Sao Paulo se diagnosticó resistencia a albendazol e ivermectina en el 100% de los establecimientos en *H. contortus* y *T. colubriformis* (Veríssimo y col., 2012).

En Argentina, la resistencia antihelmíntica se encuentra generalizada alrededor de todo el país (Tabla 6).

Provincia	Cantidad de establecimientos	Con Resistencia antihelmíntica		
		Levamisol	Bencimidazol	Avermectina
Buenos Aires	16	2	7	7
Corrientes	9	5	9	9
Chubut	3	1	1	0
La Pampa	3	0	1	1
Santa Cruz	1	0	0	0
Tierra del Fuego	1	0	0	0
Total	33	24%	55%	52%

Tabla 6. Prevalencia de la resistencia antihelmíntica en ovinos. Argentina 2006. (Adaptado de Caracostantólogo y col., 2005; Cristel, 2006)

Los primeros reportes de resistencia aparecen en ovinos en la década de 1980 (Entrocasso y col., 1988). En la década de 1990 se diagnosticó que el 95% de las majadas en la provincia de Corrientes presentaban resistencia (Eddi y col., 1996). La primera comunicación de resistencia al Oxfendazol se realizó en la zona deprimida del Salado (Romero y col., 1992). En el año 2004, el 62% de los establecimientos ovinos presentaban resistencia por lo menos a algún grupo químico (Caracostantogolo y col., 2005). En la pampa húmeda se han reportado casos de resistencia principalmente a los bencimidazoles (Entrocasso y col., 2008).

En el sur de la provincia de Corrientes, el 90% de las majadas presentan resistencia a los bencimidazoles y el 73% a

dos o más grupos químicos, siendo *H. contortus* y *Trichostrongylus* spp. los más involucrados (Romero y col., 1998). En el año 2011 el closantel demostró solo eficacia en el 20% de las poblaciones de *H. contortus* (Romero y col., 2013). En bovinos, el 95,2% de los establecimientos presentan resistencia al menos a uno de los principios activos de los fármacos utilizados y solo el 4,8% presentan susceptibilidad a éstos (Cetrá y col., 2016).

Actualmente, *H. contortus* presenta resistencia múltiple a dos, tres y cuatro fármacos en ovinos con diferentes mecanismos de acción, no solo en el NEA (Romero y col., 2007) sino también en provincias del área central de la Argentina como Buenos Aires (Entrocasso y col., 2008; Steffan y col., 2011) y Santa Fe (Anziani y Muchiut, 2014). Es importante mencionar que, si bien se notificó un solo caso de resistencia al naftalofos, fármaco incluido dentro del grupo de los organofosforados, hace casi 35 años (Green y col., 1981), este medicamento sigue siendo efectivo, sin embargo, recientemente se ha reportado resistencia (Lyndal-Murphy y col., 2014). En grupos introducidos recientemente como los derivados de amino acetonitrilo como el monepantel, también se han reportado casos de resistencia (Mederos y col., 2014; Van de Brom y col., 2015).

La resistencia antihelmíntica en los bencimidazoles se demostró en la década de 1990 (Lubega y Prichard, 1990), con mutaciones en el gen SNP F200Y. Posteriormente, se hallaron mutaciones en los isotipos I y II de este gen (Kwa y col., 1994; Prichard y col., 2013). La mutación en la posición 200 es el cambio más común en *H. contortus* (Coles y col., 2006; Von Samson-Himmelstjerna y col., 2009; Barrere y col., 2012). La resistencia en los imidazotiazoles se descubrió también en la década de 1990 en *H. contortus* (Sangster y col., 1991; Sangster y col., 1998), con el descubrimiento de formas truncadas en la subunidad nAChR en los receptores de parásitos resistentes (Neveu y col., 2007; Williamson y col., 2011; Sarai y col., 2013). Para las lactonas macrocíclicas el mecanismo de resistencia está dado por alteraciones en los canales de cloro (GluCl_s) (Blackhall y col., 2003) y por modificaciones en la glucoproteína P (P-gp) en las bombas de eflujo de los fármacos, ya sea por sobreexpresión (Lloberas, 2018) o por inhibición de los receptores (Lifschitz y col., 2010) en parásitos resistentes. Para el closantel se reportaron casos de resistencia en Australia en 1982 (Van Wyk y col., 1982) y posteriormente en la década de 1990 (Rothwell y col., 1997). En Argentina, el mayor problema de resistencia a este fármaco se

presenta en el sur de la provincia de Corrientes (Caracostantogolo y col., 2005; Romero y col., 2013). Por último, en los derivados de amino-acetonitrilo (AAD) se informaron casos de resistencia en 2013 en Nueva Zelanda en cabras (Scott y col., 2013), en 2014 en Uruguay (Mederos y col., 2014) y en 2018 en Argentina (Illanes y col., 2018) en ovinos.

1.6. Diagnóstico de resistencia antihelmíntica

Dados los altos niveles de resistencia antihelmíntica reportados a nivel global, antes de desarrollar un programa de control efectivo para *H. contortus* u otro parásito gastrointestinal, es importante conocer el estado de la resistencia antihelmíntica. Esto se puede hacer mediante la realización de un test de reducción de conteo de huevos (TRCH), un test de eficacia controlada (TEC) o una prueba denominada larval development assay (LDA) o de desarrollo larval *in vitro* en español. El TRCH es actualmente el método más utilizado debido a que tiene la ventaja que se puede realizar en cualquier lugar y con cualquier fármaco. El TEC es el método recomendado por la WAAVP como método más confiable para evaluar la actividad antihelmíntica en rumiantes (Wood y col., 1995), mientras que la prueba de LDA solo se puede realizar en un laboratorio de diagnóstico especializado. Actualmente es posible clasificar las pruebas para

el diagnóstico de resistencia en varios tipos: *in vitro*, *in vivo*, moleculares y matemáticas.

Las pruebas *in vitro* utilizan las fases de vida libre para medir la sensibilidad a los antihelmínticos, y así, detectar cualquier cambio que pueda indicar la aparición de resistencia. Son más económicas, más rápidas, evaden el efecto del hospedador y evitan algunas de las inexactitudes asociadas con los TRCH. Es posible realizarlas en rangos de concentraciones inhibitorias medias (IC_{50})¹⁴ y máximas. Entre estas pruebas tenemos: prueba de desarrollo larval (Coles y col., 1988; Taylor, 1990; Gill y col., 1995; Kaplan y col., 2007), prueba de eclosión de huevos (Coles y col., 2006), prueba de migración y motilidad larval (Folz y col., 1987; Gill y col., 1991; d'Assonville y col., 1996; Kotze y col., 2006; Demeler y col., 2010; Storey y col., 2014).

Las pruebas *in vivo* incluyen el test de eficacia controlada (TEC) y el test de reducción de conteo de huevos (TRCH) (Coles y col., 1992, 2006). El porcentaje de reducción del TRCH se calcula con la media geométrica (Presidente, 1985) o la media aritmética (Dash y col., 1988) de los recuentos de huevos en materia fecal. La limitante de esta prueba es la ausencia de precisión en las técnicas de conteo de huevos en materia fecal debido a la variación biológica (Waller, 1997; Levecke y col., 2012).

¹⁴ Concentración necesaria para reducir *in vitro* el crecimiento de una población de organismos en un 50%.

Las pruebas moleculares difieren para cada uno de los grupos químicos debido a su naturaleza molecular, lo que genera cierta dificultad. Actualmente se usan las pruebas de polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción PCR (Ghisi y col., 2007), PCR en tiempo real (Alvarez-Sanchez y col., 2005) y pirosecuenciación (Von Samson-Himmelstjerna y col., 2009). Existe una falta de correlación entre las pruebas moleculares y las pruebas biológicas, como el TRCH, debido a la falta de sensibilidad de éstas pruebas biológicas (Krawczyk y col., 2009).

Por último, están las pruebas matemáticas que modelan la intensidad de la carga parasitaria y la magnitud del recuento de huevos en materia fecal mediante la distribución binomial negativa¹⁵, que mejoran los resultados a las pruebas anteriormente mencionadas. El uso de técnicas matemáticas de máxima verosimilitud con un modelo estadístico binomial negativo permite calcular el porcentaje de reducción y la carga parasitaria para detectar de manera temprana la resistencia antihelmíntica (Torgerson y col., 2005). Se deben emplear paquetes estadísticos en los que el error de la varianza se pueda expresar explícitamente.

¹⁵ Distribución discreta que modela el número de ensayos necesarios para producir un número específico de eventos. Incluye la distribución de Pascal.

Actualmente, los métodos *in vivo* como el TEC y el TRCH son actualmente considerados como referencia o gold standard para el diagnóstico de resistencia (Anziani y col., 2015). En los métodos *in vitro*, las técnicas que evalúan el desarrollo de L₃, son promisorias, ya que tienen la capacidad de distinguir fácilmente entre géneros y son aplicables a varios grupos químicos. En cuanto a las técnicas de biología molecular, la PCR y RAPD-PCR, son de utilización dificultosa debido a la escasez de primers y experiencia suficiente.

1.7. Control parasitario a través de estrategias alternativas

Actualmente, la expansión y desarrollo de la resistencia antihelmíntica hace necesario explorar y validar soluciones novedosas o redescubrir las antiguas, para tener un control más sostenible. Las soluciones planteadas se basan en tres principios fundamentales de acción para interrumpir el ciclo de vida del parásito.

1. Limitar el contacto entre hospedadores y larvas infestantes en las pasturas.

2. Mejorar la respuesta del hospedador basándose en la selección genética mediante el cruzamiento de razas resistentes y susceptibles.
3. Eliminación de los parásitos en el hospedador utilizando métodos antihelmínticos no convencionales.

Dentro de las estrategias alternativas para este control, es posible encontrar varios métodos. Entre ellos tenemos: la rotación de fármacos dentro de los grupos químicos de amplio espectro con previa realización de un TRCH. Sin embargo, cada tratamiento provoca que la resistencia se desarrolle simultáneamente a más de un fármaco (Kaplan, 2013). El uso simultáneo de dos o más grupos químicos, que genera una eficacia aditiva que ralentiza el desarrollo de resistencia en una población (Bartram, y col., 2012).

Tratamientos selectivos por el método FAMACHA[®], método clínico desarrollado en Sudáfrica en la década de 1990, nombrado así en honor a su creador, el profesor Francois -apodado Faffa- Malan Chart. Se basa en la observación de la coloración de la mucosa conjuntival de los animales para clasificarlos en categorías según el nivel de anemia y la carga de parásitos chupadores de sangre, como *H. contortus*. Consta de una escala de cinco niveles (Tabla 7) según los colores de la mucosa conjuntival (van Wyk y Bath, 2002).

Escala	Coloración	Hematocrito
1	Rojo intenso	Mayor a 30,5 (No anémico)
2	Rojo rosa	Entre 27,2 y 30,5 (No anémico)
3	Rosa	Entre 23,9 y 27,2 (Anemia leve)
4	Rosa blanco	Entre 18,7 y 23,9 (Anémico)
5	Blanco	Entre 18,7 y 11,5 (Severamente anémico)

Tabla 7. Escalas de FAMACHA[®] y su coloración vs. Hematocrito (Kaplan y col., 2004; Reynecke, y col., 2011)

El método FAMACHA[®] es una forma eficaz para determinar aquellos animales que necesitan desparasitación por haemonchosis, mediante tratamientos selectivos, evitando desparasitar a todos los animales de una población (Van Wyk y Bath, 2002). FAMACHA[®] se distribuye bajo los auspicios de la Asociación Veterinaria de Sudáfrica. El profesor Bath G.F., coordinador del proyecto de FAMACHA[®] en Sudáfrica, ha exigido que la distribución sea realizada por el ACSRPC a través del laboratorio del Dr. Kaplan de la Universidad de Georgia, Estados Unidos (Bath y col., 1996).

Otra estrategia es el manejo y mantenimiento de las pasturas, basada en los conceptos de higiene que se aplican para limitar la proliferación de virus y bacterias (Michel, 1969) mediante dos tipos de medidas (O'Connor y col., 2006): las primeras son medidas sanitarias defensivas que se basan en el

control de la dinámica del desarrollo desde huevo a L₃ mediante sistemas de pastoreo rotativo aprovechando la tasa de muerte natural de las L₃ eclosionadas y las segundas son medidas sanitarias ofensivas, que se basan en la desinfección de las pasturas, mediante el uso de mecanismos químicos (González y col., 2010), físicos (Álvarez y col., 2007; Torres Acosta y col., 2008) y biológicos como hongos nematófagos (Larsen, 2000), taninos condensados (Houdijk y col., 2003), entre otros.

También existen programas estratégicos de rotación de potreros, basados en el previo conocimiento de la epidemiología y dinámica de las especies parasitarias de una región, en combinación con el manejo racional de antihelmínticos. Actualmente se utilizan sistemas de pastoreo y gestión, basados en procedimientos similares al Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) (Napoleone y col., 2011) o en la integración de datos sobre la biología, epidemiología y dinámica de las etapas de vida libre (O'Connor y col., 2006), para desarrollar modelos basados en computadora (Learmount y col., 2006), que permiten ajustar mediante software especializado prácticas de manejo (Van Wyk y col., 2005), que se transmite a los productores mediante páginas web como: www.wormwise.co.nz o <https://www.paraboss.com.au/wormboss.php>.

El pastoreo alterno con categorías menos susceptibles y otras especies como bovinos o equinos ayuda a reducir la infectividad al consumir L₃ recíprocamente, disminuyendo la carga de larvas infestantes en las pasturas.

La estimulación de la respuesta inmune por medio de vacunas ha demostrado reducciones significativas en la carga y en el recuento de huevos en materia fecal en ovinos vacunados (Smith, 1993; Knox, 2013), mediante el uso de antígenos ocultos¹⁶ extraídos de las membranas intestinales de adultos de *H. contortus* (Nisbet y col., 2016) y de un prototipo de vacuna recombinante en corderos (Fawzi y col., 2015). La selección genética de animales con una resistencia superior (Woolaston y col., 1996; Romero y col., 1999) o una tolerancia (Bisset y col., 1996) a las infecciones por nematodos gastrointestinales, basada en la búsqueda de animales con alta heredabilidad que puedan transmitir esas características a su descendencia (Woolaston y col., 1996; Riley y col., 2009; McRae y col., 2014). Esta selección se basa en la alta correlación existente entre los valores de FAMACHA[®] y el recuento de huevos en materia fecal. Estudios realizados en el sur de la provincia de Corrientes, demostraron que animales seleccionados como resistentes a la parasitosis presentan un 33% de HPG menor que los susceptibles (Cetrá y

¹⁶ Antígenos que no desempeñan ningún papel en la interacción hospedador-parásito.

col., 2015). La inmunonutrición a través de suplementos nutricionales generan una respuesta positiva tanto para la resistencia como para la resiliencia en infecciones por nematodos (Coop y col., 1999; Steel, 2003).

Además de todas estas estrategias, existen también tratamientos no convencionales que no se enmarcan en ninguno de los métodos mencionados anteriormente como las partículas de óxido de cobre (COWP) que tienen una eficacia significativa en ovinos frente a *H. contortus* (Bang y col., 1990); compuestos naturales de las plantas como los nutraceuticos¹⁷ (Andlauer y col., 2002) usados para ralentizar la dinámica de las infecciones y mejorar la resiliencia en los animales (Githiori y col., 2006; Torres Acosta y col., 2008); los hongos nematófagos como *Duddingtonia flagrans* que colonizan la materia fecal y capturan las fases de vida libre (Larsen, 2000); los taninos condensados presentes en forrajes bioactivos¹⁸ (Houdijk y col., 2003) como las plantas taníferas, que tienen propiedades antihelmínticas contra nematodos intestinales. Por último, varios estudios han demostrado que es posible diseñar protocolos de introducción de cepas susceptibles con diferentes géneros de nematodos, en

¹⁷ Forrajes que tienen efectos beneficiosos para la salud de los animales debido a la presencia de uno o más metabolitos secundarios propios de las plantas.

¹⁸ Son plantas que producen una variedad de metabolitos secundarios con propiedades antihelmínticas.

bovinos y ovinos, con el objetivo de recuperar la susceptibilidad del refugio y mejorar la eficacia de los tratamientos antihelmínticos (van Wyk y Schalkwyk, 1990; Fiel y col., 2017; Muchiut y col., 2019) y así reversionar la resistencia.

El control de la resistencia antihelmíntica debe basarse en la integración de estrategias y enfoques de control diseñados para satisfacer las necesidades de los productores y establecimientos (Waller, 2006). Comparar el efecto combinado de estos métodos contra el efecto individual es dificultoso, sin embargo, a pesar de esto se han comenzado a estudiar diferentes combinaciones de estos como COWP y *Duddingtonia flagrans* con buenos resultados en ovinos (Burke y col., 2005), suplementos alimenticios y COWP en cabras ramoneras con resultados positivos (Martínez Ortiz de Montellano y col., 2007) y suplementación con nutracéuticos en ovejas posparto (Kidane y col., 2010) y corderos en crecimiento (Martínez Ortiz de Montellano y col., 2010) para mejorar la inmunidad, entre otros.

Cuando se combinan diferentes herramientas de control, debe tenerse en cuenta que pueden ocurrir interacciones entre ellas. La mayoría de las veces las interacciones son positivas, pero pueden existir interacciones negativas, cuando una bloquea el efecto de otra. Un ejemplo de interacción positiva es el control de L₃ mediante la rotación de pasturas y aplicación de un agente de

control biológico como *Duddingtonia flagrans* o con el consumo de forrajes bioactivos. Por otro lado, una interacción negativa ocurre al alimentar a los animales antes de un tratamiento antihelmíntico con bencimidazoles orales o lactonas macrocíclicas, ya que el alimento reduce el tiempo de la absorción de los metabolitos disminuyendo la eficacia (Sanyal y col., 1995).

Es importante remarcar que este enfoque integrador significa una revolución conceptual. El paso de un uso exclusivo de fármacos antihelmínticos estandarizados y altamente eficientes hacia una combinación de soluciones menos efectivas, menos definidas, pero más sostenibles, implica que el objetivo final ya no es la eliminación del 100% de las poblaciones de nematodos gastrointestinales, sino reducir las poblaciones o ralentizar la dinámica de las infecciones a largo plazo (Jackson y col., 2009).

1.8. Planteamiento del problema

En el sur de la provincia de Corrientes, *H. contortus* tiene la capacidad de prevalecer durante todo el año, generando infestaciones masivas sostenidas en el tiempo ocasionando una marcada pérdida en la producción ovina. Como se dijo anteriormente, el desarrollo, la migración y la supervivencia de las L₃ están fuertemente influenciados por las características geográficas, ambientales y zonales propias de la región, así como

de factores climáticos como temperatura, precipitaciones, humedad, balance hídrico y almacenaje total correspondientes a cada una de las estaciones del año.

Cuantificar la interacción entre estos factores y su impacto en la dinámica de las fases de vida libre, permite diseñar estrategias alternativas, ya sean simples o combinadas de aquellas estrategias convencionales y no convencionales, con el objetivo principal de explicar los fenómenos epidemiológicos y visualizar enfoques para crear programas de control parasitario en la región.

Actualmente, la dificultad en el diseño de estas estrategias está dada por la falta de información epidemiológica y el uso indiscriminado de fármacos, dando como resultado la resistencia antihelmíntica. La finalidad principal de este trabajo es comprender y valorar la supervivencia y viabilidad de las fases de vida libre tanto de cepas autóctonas como de exóticas y su capacidad de adaptación, mediante el uso de parcelas experimentales, y la interrelación de éstas con las características ambientales y los factores climáticos, para así establecer bases en el uso y diseño de estrategias de control y manejo, como rotación de potreros, implantación y recambio con cepas foráneas, estudios epidemiológicos, entre otras.

1.9. Objetivos

1. Describir la supervivencia, infectividad y persistencia de la contaminación estacional en las pasturas con larvas de cepas autóctonas de *H. contortus*.
2. Describir la supervivencia, infectividad, persistencia y capacidad de adaptación en las pasturas de larvas de una cepa foránea de *H. contortus* con un perfil fenotípico y genotípico distinto introducida en la región.
3. Determinar para las dos cepas de *H. contortus* el tiempo de supervivencia y porcentaje de eclosión de larvas sembradas en cada una de las estaciones del año y como éstas influyen en su capacidad infestante.

1.10. Hipótesis del estudio

1. Las larvas de *H. contortus* de la cepa autóctona eclosionadas en las distintas estaciones del año, difieren en su tiempo de supervivencia en las pasturas.
2. Las larvas de *H. contortus* de una cepa foránea introducida en la región eclosionadas en las diferentes estaciones del año, difieren en su tiempo de supervivencia en las pasturas.
3. Tanto las larvas de la cepa autóctona como de la cepa foránea de *H. contortus* eclosionadas en las diferentes estaciones del año, difieren en el tiempo de supervivencia e infectividad en las pasturas.

2. Materiales y Métodos

Los estudios se realizaron sobre dos cepas de *H. contortus*. Una autóctona, resistente a varios antihelmínticos y una exótica o foránea, que además de tener origen en una región con factores climáticos diferentes, ha sido mantenida por años mediante inoculaciones en condiciones de laboratorio.

En un primer ensayo de prueba de eclosión y desarrollo larval se examinó el tiempo de incubación y porcentaje de recuperación de larvas en un periodo determinado, a partir de materia fecal contaminada y colocada en aparatos para cultivo en el exterior. Se sembraron mensualmente huevos en materia fecal en 10 dispositivos de Henriksen y Korsholm (Henriksen y Korsholm, 1983), colocados a la intemperie y revisados de a uno por semana hasta el agotamiento de las larvas.

En un segundo ensayo de la persistencia de contaminación en parcelas, se estudió el tiempo de sobrevivencia de L₃ en los pastos a partir de la diseminación de huevos con animales sembradores en parcelas aisladas en cada estación del año.

La supervivencia y viabilidad de las L₃ en el ambiente, se estudió a partir de la siembra masiva de huevos con animales "sembradores" para cada una de las cepas y en parcelas independientes, mediante el pastoreo durante 10 días de dos animales "trazadores" introducidos libres de parásitos,

mensualmente en cada una de las parcelas durante dos años. Luego de ser retirados se mantuvieron aislados y alimentados con pellet de alfalfa durante 21 días dando tiempo de madurar a los parásitos ingeridos para luego ser sacrificados según protocolos de evaluación de carga parasitaria estándar.

Para este trabajo se utilizaron 132 ovinos sacrificados y estudiados por necropsia, 36 ovinos para distribuir la materia fecal contaminada con las cepas estudiadas y los datos meteorológicos recolectados de la estación meteorológica de la institución.

2.1. Lugar de trabajo

Se trabajó durante 2 años consecutivos, entre los años 2017 y 2019 en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) de la localidad de Mercedes, sur de la provincia de Corrientes, del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (Fig. 5).

Esta localidad presenta paisajes clasificados como altillanura fluvio erosional, con erosión hídrica y entallamiento fluvial hacia vías de agua principales. El riesgo de encharcamiento es la principal limitante de los suelos. Los terrenos presentan elevaciones de poca altura, normalmente de forma redondeada, que se clasifican como lomas (Kurtz, 2018). La zona tiene un perfil ganadero muy marcado debido a las limitaciones de sus suelos

para explotaciones agrícolas. Sin embargo, existen cultivos de arroz, verdeos de invierno y pasturas tolerantes y no tolerantes a excesos hídricos.

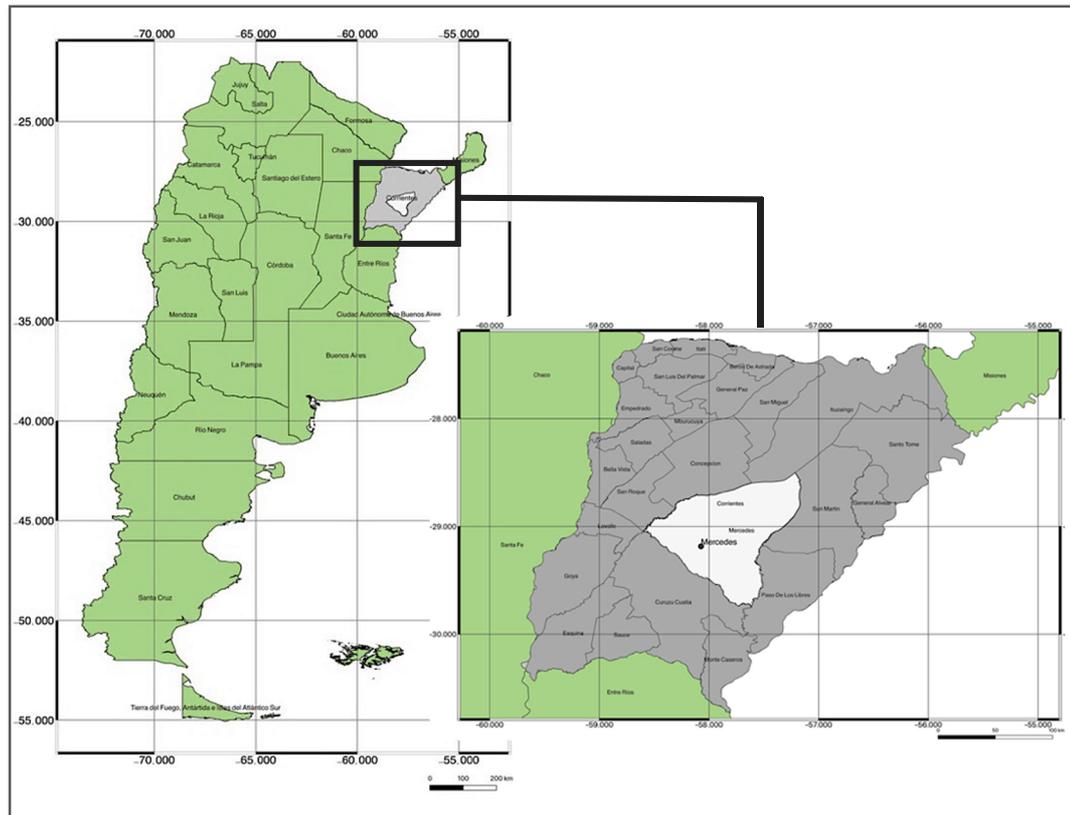


Figura 5. Mapa de Argentina con la ubicación de la localidad de Mercedes, provincia de Corrientes.

2.2. Datos climáticos

Se analizaron datos de temperatura, precipitaciones y humedad de la estación meteorológica de la EEA INTA Mercedes con coordenadas geográficas -29.194713 , -58.047595 , para la

elaboración de climogramas y bioclimatogramas. Para correlacionar esta información con los datos parasitológicos se estudiaron los siguientes factores:

- Temperatura: la temperatura de una región se calcula durante un periodo de tiempo (semanal, mensual, estacional, anual, etc.). Se tuvieron en cuenta la temperatura máxima absoluta (TmaxA), temperatura media máxima (TMMax), temperatura media CARÁCTER, temperatura mínima absoluta (TminA) y temperatura media mínima (TMMin).
- Humedad relativa máxima, media y mínima: es la cantidad de vapor de agua en el aire. Se expresa en porcentaje (%) y varía entre 0% (completamente seco) y 100% (completamente saturado) en un periodo determinado.
- Precipitaciones acumuladas (PA): las estaciones meteorológicas miden la cantidad, frecuencia, periodo e intensidad de las lluvias. La cantidad se mide en mm y la frecuencia en días.
- Evapotranspiración potencial acumulada (EPA): es la pérdida de agua producto de la evaporación del agua en

el suelo y la transpiración de las estomas de las plantas en un periodo de tiempo (Fernández-Long y col., 2012).

- Balance hídrico mensual (BHM): es la resta entre las precipitaciones y la evapotranspiración potencial. Cuando las precipitaciones superan a la evapotranspiración, el suelo comienza a recargarse de agua hasta su máxima capacidad, a partir de ese momento este exceso se pierde por escorrentía y percolación (Pizzio y col., 2021).
- Almacenaje total (AlmT): resulta de la interacción entre la oferta de agua, infiltración, retención en el suelo y la demanda de agua dada por la evapotranspiración. Cuando el almacenaje es positivo se considera que el agua precipitada ingresa al suelo, constituyendo una reserva para los días siguientes. Cuando el almacenaje es negativo indica que el suelo se está secando, y esa cantidad de agua se pierde a través de la evapotranspiración (Fernández-Long y col., 2012).

En marzo de 2017 se inició con la recolección de la información para la elaboración de climogramas y bioclimatogramas, desde la estación meteorológica convencional del Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica de la

EEA Mercedes (Corrientes) del INTA. Los registros climáticos históricos de los últimos 30 años de la estación se detallan en la tabla 8.

Parámetro	Valor
Tipo general	Húmedo, megatérmico ¹⁹
Temperatura media anual (TM °C)	19,93
Temperatura máxima absoluta (TmaxA °C)	42,10
Temperatura mínima absoluta (TminA °C)	-5
Precipitación media anual (PA mm)	1437,67
Humedad relativa media (HRM %)	71,9
Evapotranspiración media anual (ETPA mm)	1083,22
Balance hídrico anual (BHM mm)	354,45
Almacenaje total media (AlmT mm)	159,57

Tabla 8. Registros climáticos históricos de los últimos 30 años de la localidad de Mercedes, Corrientes. Datos tomados de la estación meteorológica EEA INTA Mercedes (Kurtz y col, 2018)

2.3. Cepas parasitarias

Para este trabajo se utilizaron dos poblaciones, variantes o cepas parasitarias de *H. contortus*. Cada una de ellas presentan características y peculiaridades propias, como ascendencia, origen

¹⁹ Clima caracterizado por una temperatura media anual de 25 °C con totales pluviométricos importantes, con rangos entre 1.500 a 3.000 mm y regulares a lo largo del año.

y perfil fenotípico de susceptibilidad a los antihelmínticos, y en el caso de una de ellas se conoce su perfil genotípico.

La primera es la cepa autóctona obtenida de animales de la EEA INTA Mercedes, naturalmente infectados en el lugar de trabajo, a la que llamaremos cepa INTA. Esta cepa está caracterizada fenotípicamente por su resistencia a diferentes antihelmínticos, evaluada mediante un test de reducción de conteo de huevos en materia fecal (TRCH), siguiendo las recomendaciones de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) (Coles y col., 1992), con resultados que se muestran en la tabla 9.

Antihelmíntico	% de reducción
Fenbendazol	0
Ivermectina 1%	0
Fenbendazol + levamisol	66
Levamisol	78
Closantel	85

Tabla 9. TRCH para la cepa autóctona o cepa INTA en el año 2017.

La segunda es una cepa "foránea" para la zona, originaria de la provincia de Buenos Aires aislada años atrás en el CEDIVE, de una majada de consumo del establecimiento "La Feliciano" (Chascomús) donde la aplicación de antihelmínticos en ovinos es prácticamente nula. Fenotípicamente esta cepa es susceptible a

bencimidazoles, ivermectina, closantel y levamisol. A esta la llamaremos cepa CEDIVE, la cual fue estudiada también por su perfil genotípico en relación con su susceptibilidad a los bencimidazoles y comparada con otras cepas de referencia de la provincia de Buenos Aires, Corrientes y Uruguay presentando un porcentaje de reducción del 100% por TRCH y por estudio crítico por necropsia (Guzmán, 2014).

Para la caracterización morfológica de esta cepa, se realizaron mediciones con microscopio estereoscópico de alta resolución. En los machos se midió el largo de las espículas, la distancia de la punta al gancho de la espícula derecha y distancia de la punta al gancho de la espícula izquierda (Giudici y col., 1999b). En las hembras se observó el tipo de solapa vulvar y se clasificaron en tres morfotipos: lengüeta, botón o liso (Berberian, 1957).

Los estudios moleculares se basaron en la realización de dos técnicas, ARMS-PCR y pirosecuenciación. Estas detectan mutaciones en el isotipo 1 de β -tubulina responsable de la resistencia a bencimidazoles en *H. contortus*.

En la técnica de ARMS-PCR se diferenciaron tres bandas de 296 pb, 198 pb y 146 pb, distinguiéndose así 3 genotipos:

1. Homocigota resistente con bandas 296 pb y 198 pb
2. Heterocigota con bandas 296 pb, 198 pb y 146 pb
3. Homocigota susceptible con bandas 296 pb y 146 pb

La cepa CEDIVE presentó tres patrones de bandas, aunque una de ellas (198 pb) en muy poca proporción, por esto, es considerada homocigota susceptible con dos bandas, 296 pb y 146 pb (Guzmán, 2014).

Las pruebas de pirosecuenciación, revelaron que la mayoría de los individuos presentaron mutaciones a nivel del codón 200 de β -tubulina. La mutación más frecuente es TAC/TAC presente en cepas resistentes. La mutación de la cepa CEDIVE es TTC/TTC, homocigota susceptible para los bencimidazoles.

Una vez aisladas las dos cepas para este trabajo, fueron mantenidas por inoculación en animales libres de parásitos, aislados en jaulas o corrales con piso elevado de reja de madera y alimentados con pellet de alfalfa y agua ad libitum. Esa condición de libres iniciales y la inoculación se aseguró mediante un protocolo, que se describe a continuación.

2.4. Protocolo de desparasitación previo a cualquier inclusión de animales en los ensayos.

La metodología de desparasitación se fundamenta en los resultados obtenidos en el TRCH (Tabla 10), además de la tipificación fenotípica y genotípica, según corresponda, realizados en la estación experimental y en establecimientos de la zona de donde son originarios los animales a incluir.

Día	Antihelmíntico	Dosis	Vía de administración
1	Fenbendazol 10%	5 mg/kpv	Oral
2	Naftalofos 15%	50 mg/kpv	Oral
3	Levamisol 5%	8 mg/kpv	Subcutánea

Tabla 10. Protocolo de desparasitación

Al inicio del protocolo los animales fueron introducidos en la jaula elevada y al día 6 se evaluaron los recuentos de huevos en materia fecal. Si el resultado obtenido en este recuento era igual a 0, se procedía con la inclusión como animales sembradores con su respectiva inoculación o para ser utilizados como trazadores. Cuando el resultado era diferente de 0, se repetía el protocolo hasta asegurar este valor.

2.5. Recolección de huevos y cultivo de larvas

Se mantuvieron animales inoculados con cada una de las cepas, como donadores para los ensayos y para la inoculación de aquellos seleccionados como sembradores. Se recolectó materia fecal mediante el uso de calzones diseñados y acondicionados para este fin en los animales donadores (hembras), que almacenaban diariamente la totalidad de la materia fecal producida o directamente en el momento desde el recto. Los recuentos de esta materia fecal siempre superaron los 200 de HPG. Los cultivos de

las larvas se hicieron mediante la técnica de Henriksen y Korsholm, recolectadas con un dispositivo de Baermann y luego conservadas en frascos de cultivo celular de 200 ml con agua estéril, en una concentración no mayor a 5.000 L3/ml, en refrigeración (7° C) hasta el momento de la inoculación (Niño Uribe y col., 2017).

2.6. Inoculaciones

Las inoculaciones se realizaron por vía oral siguiendo un protocolo propio establecido (Tabla 11) con un total de 6000 L₃ vitales y móviles por animal, que en el caso de ser negativo se continua con una reinoculación por vía intraruminal con la misma cantidad de larvas.

Día	Procedimiento
1 (mañana)	Inoculación con 2000 L3 móviles por vía oral
1 (tarde)	Inoculación con 2000 L3 móviles por vía oral
2 (mañana)	Inoculación con 2000 L3 móviles por vía oral
23 (mañana)	HPG (solo si el resultado es igual a 0, reinocular)
23 (tarde)	Reinoculación con 6000 L3 por vía intraruminal

Tabla 11. Protocolo de inoculación

Una vez inoculados fueron introducidos de nuevo en la jaula "tarima" de madera, de 3,5 m de largo por 3 m de ancho, elevada

1 m desde el piso (Fig. 6), donde fueron mantenidos en confinamiento y alimentados con pellets de alfalfa, hasta la aparición de huevos en la materia fecal, que en general no fue menor a 200 de HPG.

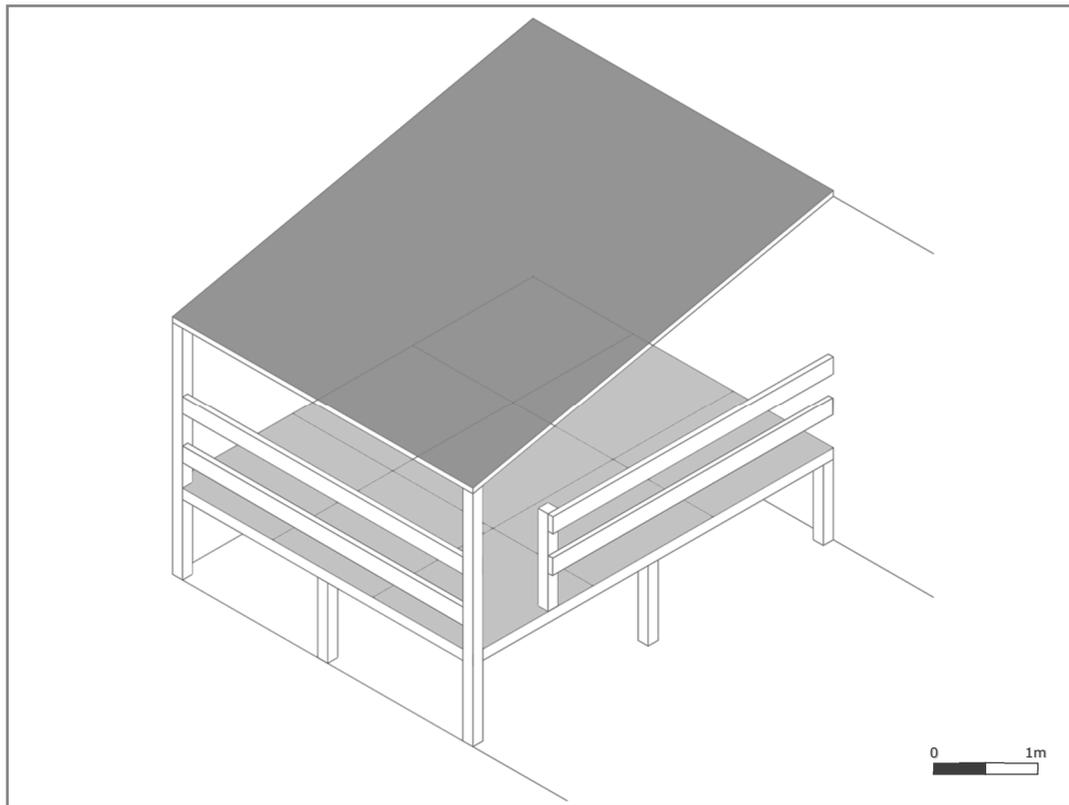


Figura 6. Jaula, corral o "tarima" de piso elevado con enrejado de madera.

En el caso de los animales sembradores, se esperó hasta que el HPG de los 2 animales de cada una de las cepas sea igual o superior a 2000 huevos por gramo, que se logró en un tiempo no mayor a 21 días.

2.7. Prueba de eclosión y desarrollo larval

Se realizó una prueba de eclosión y desarrollo larval (Coles y col., 1988) pero adaptada a condiciones de campo. Esta prueba se inició en marzo de 2018 y fue repetida mes a mes, durante 2 años consecutivos. Inicialmente se recolectaron 500 gr de materia fecal del recto de ovinos por cada una de las cepas, con un HPG superior a 100. Seguidamente se confeccionaron 10 vasos plásticos de 120 ml con 15.000 huevos cada uno, para la realización de coprocultivos mediante la técnica de Henriksen y Korsholm por cada una de las cepas, etiquetados del 1 al 10 y colocados en un contenedor de madera para protegerlos de las condiciones ambientales (Fig. 7).

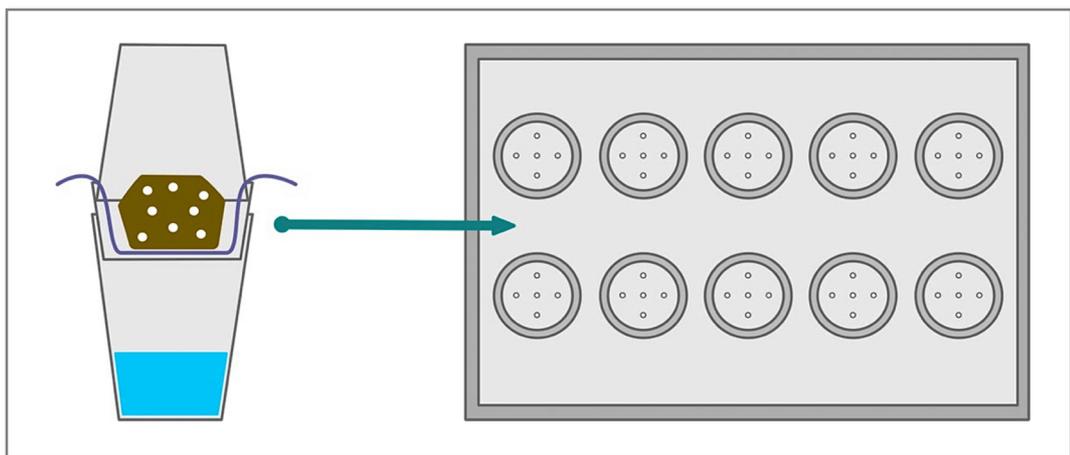


Figura 7. Esquema de los coprocultivos con el método Henriksen y Korsholm dentro del contenedor de madera ubicados en condiciones de campo.

Una vez confeccionados los vasos, inmediatamente fueron trasladados a un lugar contiguo a las parcelas. Pasados 3 días, se inició con la extracción de éstos, empezando con el vaso etiquetado con el número 1, contando en el laboratorio la cantidad de L₃ presentes. A continuación, se fueron extrayendo los vasos consecutivos cada 2 días hasta llegar al vaso número 10, se llevaron al laboratorio y mediante un dispositivo de Baermann se dejaron decantar por 6 horas como mínimo, para luego recolectarlas y posteriormente contar la cantidad de larvas eclosionadas en cada uno. Esta metodología fue repetida mes a mes.

2.8. Parcelas experimentales para el ensayo de persistencia

En un potrero de campo natural con pastizales y pasturas tipo mosaico propias de la región, se construyeron 8 parcelas contiguas con dimensiones de 10 m de ancho por 15 m de largo con un área de 150 m² cada una. Las mismas fueron separadas por un alambrado fijo de 7 hilos, con postes de apoyo enterrados 0,8 m y varillas cada 2 m. En las divisiones se realizaron zanjas en el suelo de 0,3 m de profundidad en cada uno de sus lados, como barrera física y desagüe, para evitar que, en caso de lluvias, el escurrido de agua residual se traslade de una parcela a la otra

(Fig. 8). En los lugares donde fue necesario, se rellenó el terreno para nivelar su superficie y así formar un plano de apoyo adecuado para los animales. Para la construcción se tuvieron en consideración los desniveles preexistentes del suelo.

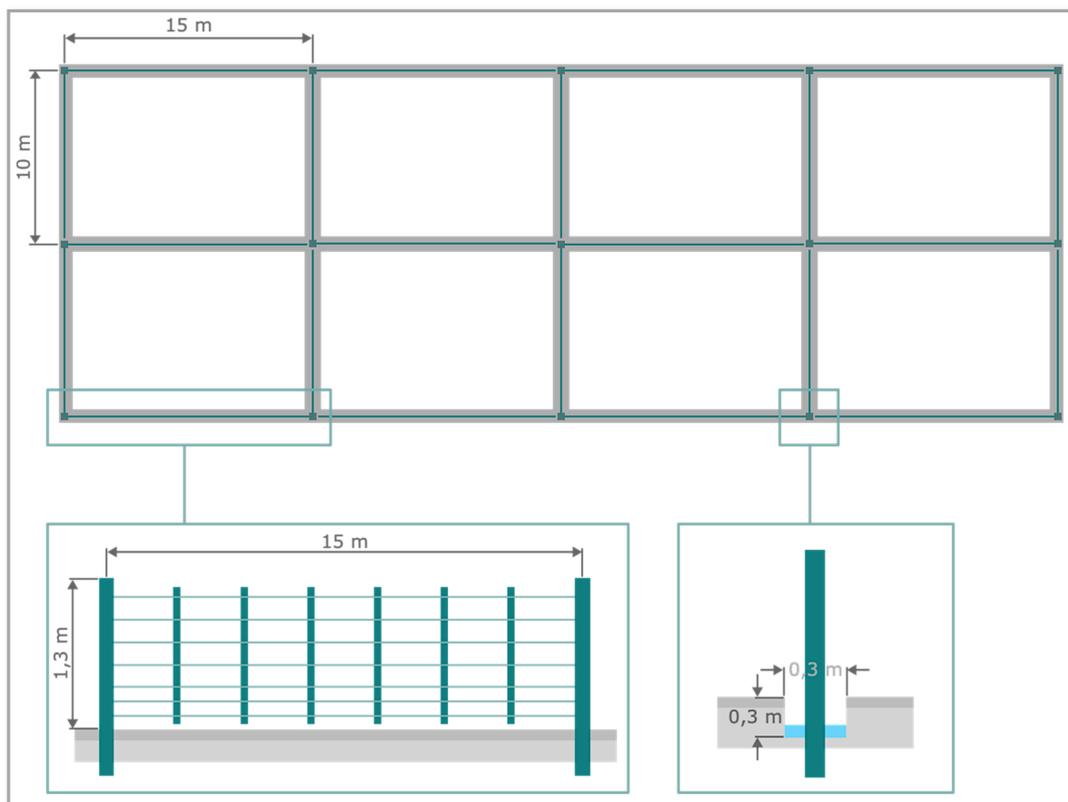


Figura 8. Esquema del diseño de las parcelas experimentales.

Estos potreros presentan una gran diversidad de especies herbáceas propias de los campos naturales. Es común encontrar más de 20 especies diferentes en una superficie de $\frac{1}{4}$ de m^2 y la mayoría de ellas gramíneas de calidad, sin embargo, generalmente 7 u 8 especies aportan más del 80% del forraje. Se

destaca el grupo de las gramíneas y dentro de este el género *Paspalum* spp. con una cobertura superior al 40% del área (Pizzio y col., 2021).

2.9. Contaminación de las parcelas

Para el proceso de contaminación se utilizó materia fecal de dos ovinos de raza ideal con un promedio de 25 kg de peso vivo por cada parcela, previamente tratados con el protocolo de desparasitación establecido en el punto 2.7 denominados animales sembradores.

Se realizaron contaminaciones o siembras escalonadas en los primeros 15 días de los meses de abril, julio, septiembre y diciembre, característicos del otoño, invierno, primavera y verano respectivamente, en cada una de las parcelas y por cada cepa de *H. contortus* (Fig. 9).

A partir del mes de abril de 2017 se introdujeron 2 animales en cada parcela por un periodo de tiempo no mayor a 30 días, correctamente identificados e inoculados con cada una de las respectivas cepas, en las parcelas denominadas A1 y B1. En el mes de julio en las parcelas A2 y B2 (Fig. 9), y así sucesivamente por 2 años consecutivos, hasta completar las 4 parcelas correspondientes a cada estación del año.

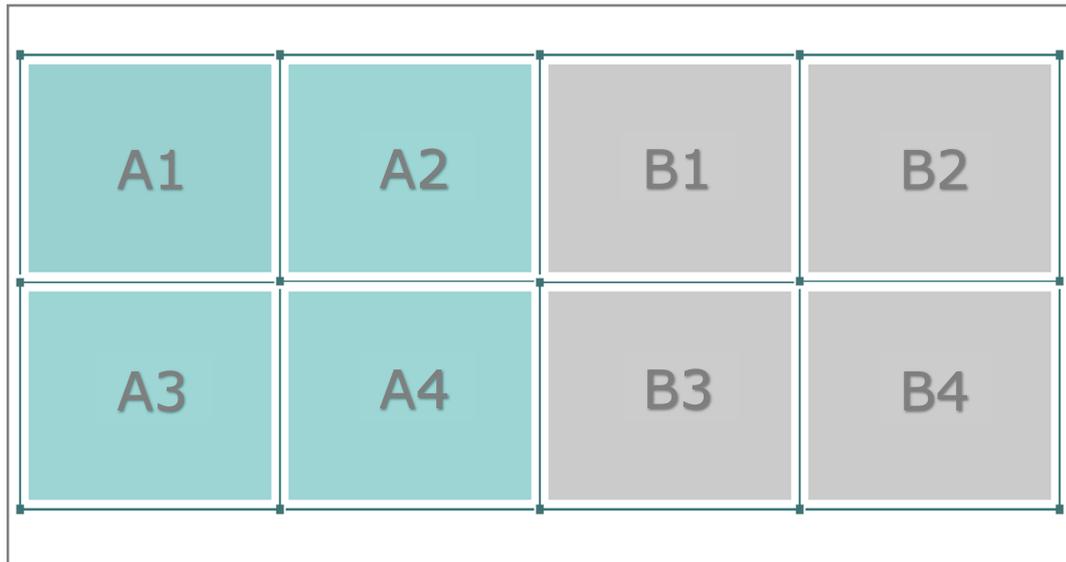


Figura 9. Distribución de las parcelas. A=Cepa CEDIVE, B=Cepa INTA, 1=Otoño, 2=Invierno, 3=Primavera, 4=Verano

Semanalmente se realizaron cálculos del nivel de contaminación, multiplicando el resultado del recuento de huevos mediante la técnica de Mc Master modificada (Roberts y O'Sullivan, 1949) y el peso en gramos de la materia fecal, hasta lograr como mínimo 100.000 huevos/m², es decir, 15.000.000 de huevos totales por parcela. Una vez lograda esta cantidad, los animales eran retirados de las parcelas y llevados nuevamente a confinamiento en la jaula elevada (Fig. 6).

2.10. Rastreo de las parcelas

Una vez finalizada la inoculación con la cantidad de huevos establecida para la contaminación, y dejando transcurrir un

tiempo de 21 días, tiempo necesario para que los huevos sembrados continúen su desarrollo hasta L₃, se procedió a introducir 2 ovinos denominados animales trazadores, previamente desparasitados con el protocolo ya descrito, mantenidos en estabulación y racionamiento en jaula hasta que transcurra el periodo de efectividad de los antihelmínticos utilizados y el resultado del HPG sea igual a 0, en cada una de las parcelas por estación y por cepa de *H. contortus*. Una vez transcurridos 10 días de pastoreo en las respectivas parcelas, para evitar autocontaminaciones²⁰ fueron extraídos y llevados a la jaula elevada, donde permanecieron por 21 días más, para después continuar con la necropsia coincidente para cada mes del año o por factores biológicos con un desfase de algunos días, y luego realizar el conteo e identificación de los parásitos gastrointestinales (Lukovich, 1985; Ueno y Gonçalves, 1988; Fiel y col., 2011). El contenido de las vísceras se lavó y filtró por separado, extrayendo alícuotas y recuperando el 10% del lavado de abomaso para el conteo de *H. contortus*, intestino delgado e intestino grueso para otros géneros parasitarios. Para el cálculo del número de adultos por cepa, parcela y mes, se tuvo en cuenta el promedio de la cantidad de parásitos de los dos ovinos luego de

²⁰ Contaminación con huevos de adultos desarrollados a partir de las L₃ inoculadas en los animales de la misma parcela.

la necropsia. Además, se realizó digestión péptica de la pared abomasal para reconocimiento de nematodos inmaduros. La identificación de las especies se realizó en base a los machos adultos. (Jacquiet y col., 1997).

Este procedimiento fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio o Experimentación (CICUAL), de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), con la recomendación de limitar el riesgo clínico de los animales si fuera necesario.

Esta metodología fue repetida mes a mes en cada parcela, hasta agotar la cantidad de huevos disponibles y por lo tanto la capacidad infestante de la pastura. Esta capacidad se consideró agotada cuando en la necropsia se encontró una carga menor a 50 adultos totales. Se utilizó este valor de corte, debido a que este es el punto de sensibilidad de las alícuotas del 2% del contenido de las vísceras en la técnica de necropsia utilizada (Ueno y Gonçalves, 1988).

Para detectar el eventual fenómeno de hipobiosis, se mantuvieron a los animales trazadores 21 días en la jaula, como se mencionó antes, para luego ser sacrificados. Este tiempo fue considerado necesario para que las larvas ingeridas provenientes de las parcelas pudieran madurar y convertirse en larvas inhibidas

tanto en la luz del órgano, como en la mucosa (Nari y col., 1977; Castells y col., 2011).

2.11. Análisis estadístico

Para estudiar el tiempo que tarda en ocurrir un evento ya sea beneficioso, perjudicial o incluso indiferente, se emplean un conjunto de técnicas estadísticas que se conocen como análisis de supervivencia o de sobrevida. Este tipo de análisis consiste en estudiar el tiempo que transcurre entre un evento inicial determinado por la inclusión del individuo en el estudio y un evento final que determina la finalización de éste. En los estudios de supervivencia el análisis de los datos puede ser realizado mediante técnicas paramétricas y no paramétricas. Dentro de las últimas se encuentran la metodología de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, 1958) y la regresión de Cox. El tiempo es una variable cuantitativa que puede ser estudiada mediante análisis de la varianza o modelos de regresión, sin embargo, en los análisis de supervivencia deben tenerse en cuenta 2 aspectos, el primero que el tiempo no acostumbra a seguir una distribución normal y el segundo que durante el estudio pueden existir pérdidas que dificultan la observación del evento en estudio.

En este trabajo para el estudio de supervivencia de las L₃ se utilizaron las tablas de vida, las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, 1958) y el modelo de Regresión de Cox (Hosmer y col., 2008) para estimar en función del tiempo, la probabilidad de que ocurra la muerte de las L₃. Se consideró como evento inicial al día 21 de terminada la contaminación o siembra de las parcelas, para cada cepa y estación del año, y fueron introducidos los animales trazadores a pastorear, y como suceso o evento final cuando en la realización de la necropsia de estos animales se encontró una carga menor o igual a 50 adultos totales de *H. contortus*.

La comparación entre los valores de supervivencia obtenidos para cada una de las cepas y la relación de las variables climáticas como temperatura, humedad y precipitaciones para cada estación del año, se realizaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y para el análisis en los efectos de los diferentes factores se utilizó el modelo lineal general con diseño de medidas repetidas o diseños intrasujetos. Para el estudio de los datos se utilizó el software estadístico IBM Corp. Released 2021 SPSS Statistics for Macintosh, Version 28.0. Armonk, NY: IBM Corp. con el código de autorización 54575b3071f1d686fd0e.

3. Resultados

3.1. Datos climáticos

Según el modelo climático de Köppen-Geiger, la localidad de Mercedes se clasifica como tipo Cfa, caracterizada por tener un clima templado cálido, sin estación seca, muy húmeda y con veranos calientes.

Para la realización del presente trabajo se estableció como el periodo 1 al tiempo transcurrido entre marzo de 2017 a febrero de 2018 y el periodo 2 desde marzo de 2018 a febrero de 2019. El resultado de los parámetros principales obtenidos para cada periodo en la estación meteorológica de la zona se detalla en la tabla 12.

Parámetro	Periodo 1	Periodo 2
Temperatura media anual (TM °C)	21,40	20,80
Temperatura máxima absoluta (TmaxA °C)	39,80	39,00
Temperatura mínima absoluta (TminA °C)	-3,00	-0,30
Precipitación anual (PA mm)	1397,80	1861,60
Humedad relativa media (HRM %)	80,90	85,59
Evapotranspiración media anual (ETPA mm)	1185,30	1135,60
Balance hídrico anual (BHM mm)	450,20	637,30
Almacenaje total media (AlmT mm)	151,60	164,24

Tabla 12. Parámetros principales del clima en la región para los periodos 1 y 2.

Los registros meteorológicos mensuales para los periodos 1 y 2 se detallan en las tablas 13 y 14 respectivamente.

Variable	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Anual
TMMax (°C)	29,4	27,2	23,3	21,6	24,6	23,7	25,3	26,2	29,5	34,0	32,9	33,1	27,6
TmaxA (°C)	35,8	33,0	31,0	28,6	30,6	34,4	35,3	34,1	35,7	39,8	37,6	38,1	34,5
Tmin (°C)	18,6	13,6	13,9	11,1	11,6	11,6	14,4	14,5	14,7	19,5	20,3	18,8	15,2
TminA (°C)	10,4	8,0	7,9	1,1	-3,0	3,0	9,4	8,6	8,5	13,2	14,2	11,4	7,7
TM (°C)	24,0	20,4	18,6	16,4	18,1	17,6	19,8	20,3	22,1	26,8	26,6	26,0	21,4
PA (mm)	336,0	186,8	220,4	28,8	18,4	123,0	76,4	85,2	98,8	42,8	98,0	83,2	1397,8
HRMax (%)	86,0	85,9	94,7	96,4	95,2	95,4	96,5	95,1	91,5	91,0	98,5	96,3	93,5
HRM (%)	75,5	77,5	88,4	90,7	81,6	84,7	88,2	81,5	74,8	73,0	76,3	76,1	80,7
HRMin (%)	65,0	69,0	82,0	85,0	68,0	74,0	80,0	68,0	58,0	55,0	54,0	56,0	67,8
ETPA (mm)	107,2	71,0	42,1	32,5	48,9	65,8	82,7	118,6	144,4	172,4	161,5	138,2	1185,3
BHM (mm)	51,4	193,5	399,9	-44,5	47,4	41,3	7,3	-2,1	-44,6	-124,4	-28,5	-46,5	450,2
AlmT (mm)	163,7	170,8	183,7	170,6	158,9	166,5	172,7	167,2	142,9	103,3	97,1	121,9	151,6

Tabla 13. Registros meteorológicos del periodo 1. Estación Meteorológica EEA INTA Mercedes, Corrientes, Argentina.

Variable	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Anual
TMMax (°C)	30,9	30,3	23,4	18,9	18,7	21,2	26,4	27,1	29,5	31,3	30,9	31,3	26,7
TmaxA (°C)	36,8	34,5	29,9	27,3	30,6	33,7	39,0	34,7	36,0	37,6	36,6	37,9	34,6
Tmin (°C)	17,0	19,1	13,2	6,8	8,7	7,0	15,0	15,0	18,0	19,0	21,6	19,1	14,9
TminA (°C)	9,3	15,2	4,0	-0,3	2,3	0,0	7,9	8,2	12,1	9,7	16,3	10,6	7,9
TM (°C)	23,9	24,7	18,3	12,8	13,7	14,1	20,7	21,0	23,7	25,2	26,3	25,2	20,8
PA (mm)	287,4	109,4	182,8	28,0	82,6	53,6	87,2	68,4	207,8	196,2	483,6	74,6	1861,6
HRMax (%)	95,5	98,1	95,6	95,1	99,9	97,7	95,1	96,5	98,9	97,6	98,8	96,4	97,1
HRM (%)	79,7	86,1	90,8	90,5	92,0	84,4	86,6	82,2	80,4	80,3	91,9	82,2	85,6
HRMin (%)	64,0	74,0	86,0	86,0	84,0	71,0	78,0	68,0	62,0	63,0	85,0	68,0	74,1
ETPA (mm)	115,1	82,7	38,6	33,1	32,1	64,7	86,6	122,9	133,2	156,2	140,6	129,2	1135,0
BHM (mm)	-96,1	51,3	236,4	11,9	66,9	174,0	15,7	41,9	135,8	-88,3	208,3	-120,6	637,3
AlmT (mm)	154,2	164,6	177,5	169,0	175,6	159,4	152,7	154,2	166,2	164,4	182,5	150,6	164,2

Tabla 14. Registros meteorológicos del periodo 2. Estación Meteorológica EEA INTA Mercedes, Corrientes, Argentina.

En el periodo 1 la temperatura más alta se registró en el mes de diciembre y la más baja en el mes de junio. En el caso del periodo 2 la más alta en el mes de septiembre y la más baja en el

mes de julio. Las temperaturas medias siempre estuvieron por arriba de los 10 °C, tanto para el periodo 1 (Tabla 13) como para el periodo 2 (Tabla 14). En relación con los registros históricos para la región, en el periodo 1 las temperaturas máximas ($p=0,69$), medias ($p=0,73$), y mínimas ($p=0,81$), no presentaron diferencias significativas. Para el periodo 2 las temperaturas máximas presentaron diferencias significativas ($p=0,04$), siendo más bajas que el histórico, mientras que las temperaturas medias ($p=0,56$) y las mínimas ($p=0,76$) no presentaron significancia.

En cuanto a la evapotranspiración, el periodo 1 en relación a los registros históricos no presenta diferencias significativas ($p=0,49$), mientras que el periodo 2 si las presenta con el histórico y con el periodo 1 ($p=0,001$), siendo más alta para ambos casos (Fig. 10).

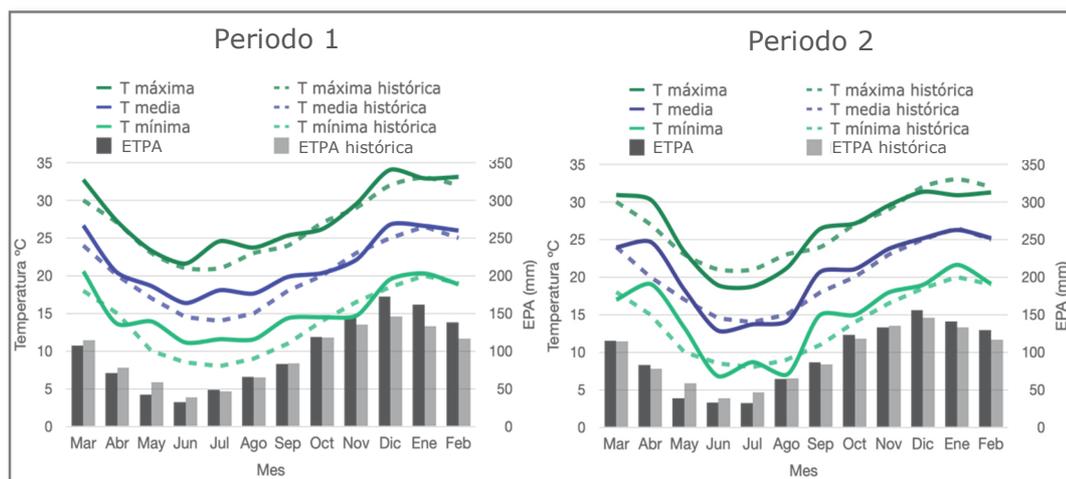


Figura 10. Temperatura máxima, media, mínima y evapotranspiración para los periodos 1, 2 y serie histórica.

En el caso de las precipitaciones anuales, el periodo 1 no evidenció diferencias significativas ($p=0,94$), por el contrario, el periodo 2 si ($p=0,04$) presentando lluvias más abundantes (Fig. 11), con una diferencia de 423,89 mm de lluvia más con respecto al registro histórico.

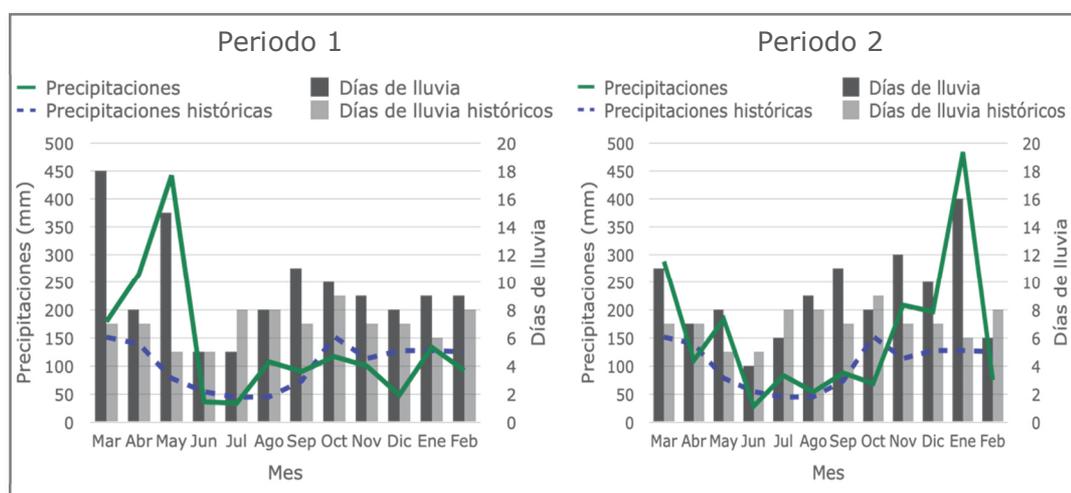


Figura 11. Precipitaciones y días de lluvia para los periodos 1, 2 y serie histórica.

En el balance hídrico no se encontraron diferencias significativas entre los dos periodos ($p=0,15$), sin embargo, estos son mayores que los registros históricos ($p=0,001$). En el almacenaje total de agua en el suelo el periodo 1 es menor y el periodo 2 es mayor respecto del histórico ($p=0,001$). Entre ellos, el periodo 2 es significativamente mayor que el periodo 1 ($p=0,001$) (Fig. 12).

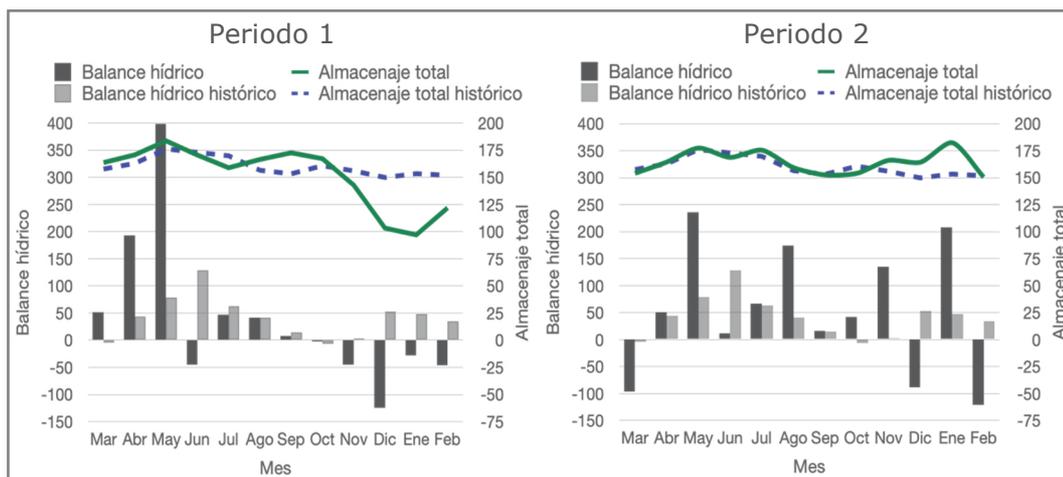


Figura 12. Balance hídrico y almacenaje de agua total para los periodos 1, 2 y serie histórica.

Los climogramas demuestran que las temperaturas medias tuvieron como límite inferior $12,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y como límite superior $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ para los dos periodos (Fig. 13), similar a los valores de la serie histórica.

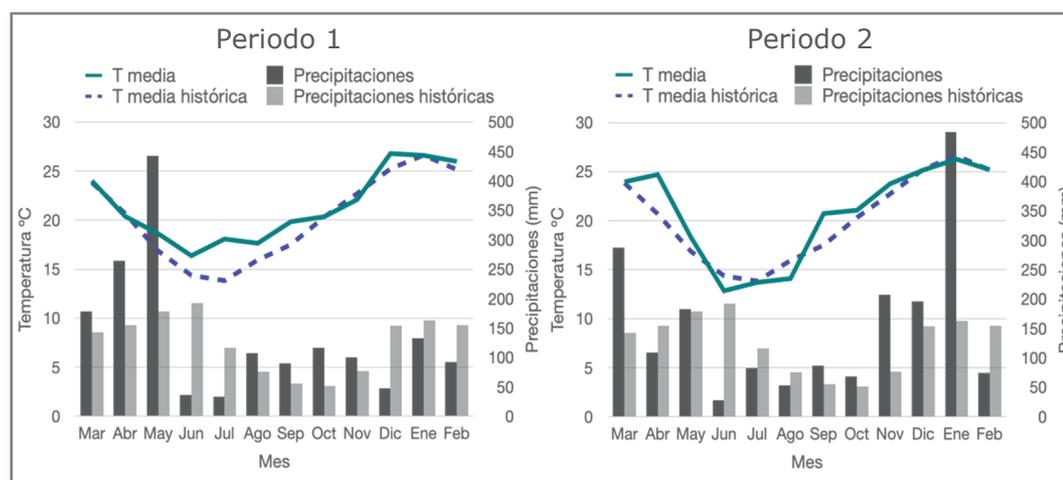


Figura 13. Climograma de los periodos 1, 2 y serie histórica para la localidad de Mercedes (Corrientes).

En los bioclimatogramas construidos según Gordon (1948) y Levine (1963), se observó que, los meses críticos serían especialmente los de invierno, lo que no coincide con los resultados obtenidos en cuanto a incubación, dispersión y supervivencia de las larvas, poniendo por lo menos en discusión la aplicabilidad de esta herramienta (Fig. 14).

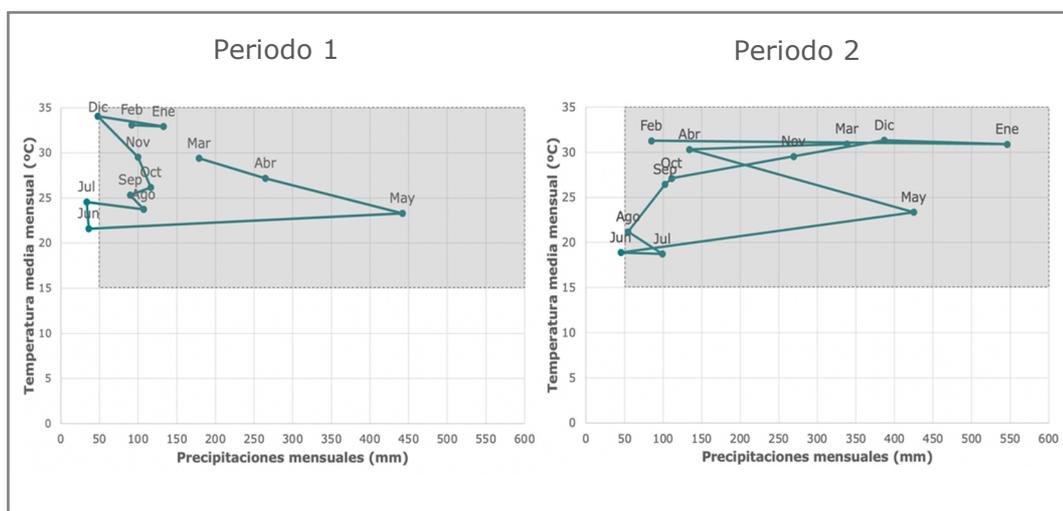


Figura 14. Bioclimatogramas de los dos periodos basados en las temperaturas y precipitaciones para la localidad de Mercedes (Corrientes).

3.2. Prueba de eclosión y desarrollo larval

Los porcentajes de eclosión obtenidos para las dos cepas ($p=0,859$) y para los dos periodos ($p=0,918$) no presentan diferencias significativas, lo que demuestra que no hay un efecto cepa ni un efecto año.

Para los dos periodos en el mes de julio se presentaron los porcentajes de eclosión más altos con 33% y 29% para la cepa INTA y la cepa CEDIVE, respectivamente. De igual manera en el periodo 1 se observaron porcentajes más altos que en el periodo 2 (Fig. 15).

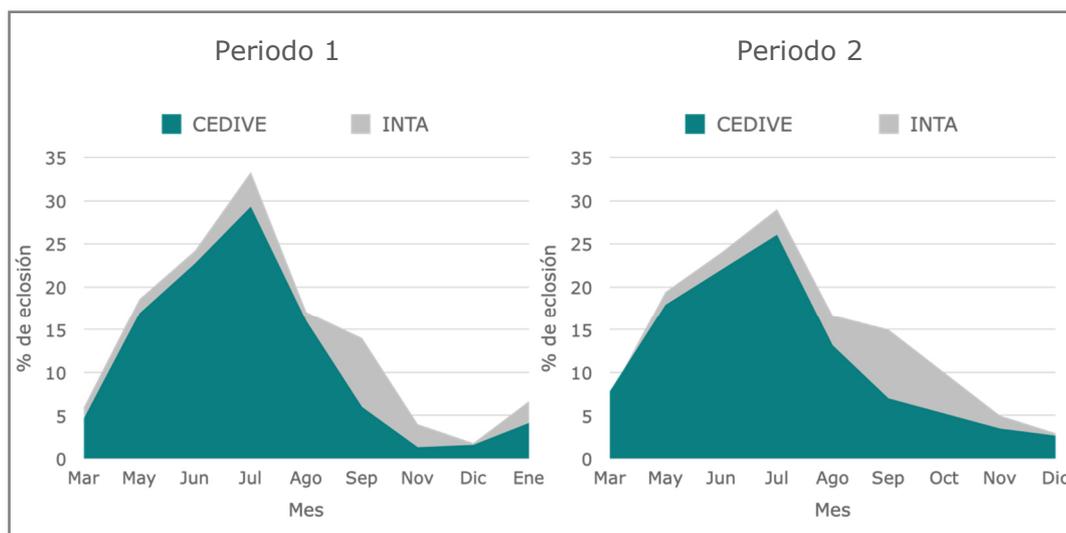


Figura 15. Porcentaje de eclosión de *H. contortus* en cada mes del año para los periodos y las cepas estudiadas.

Las temperaturas máximas presentan una fuerte asociación negativa con el porcentaje de eclosión de los huevos ($R^2=0,856$), ya que a medida que estas temperaturas aumentan, el desarrollo de las larvas disminuye. Para el caso de las temperaturas mínimas su grado de asociación es menor ($R^2=0,632$), sin embargo, esta asociación tiende a ser neutra (Fig. 16). Esto demuestra que las

altas temperaturas tienen un efecto negativo más fuerte en el porcentaje de eclosión de los huevos afectando su desarrollo.

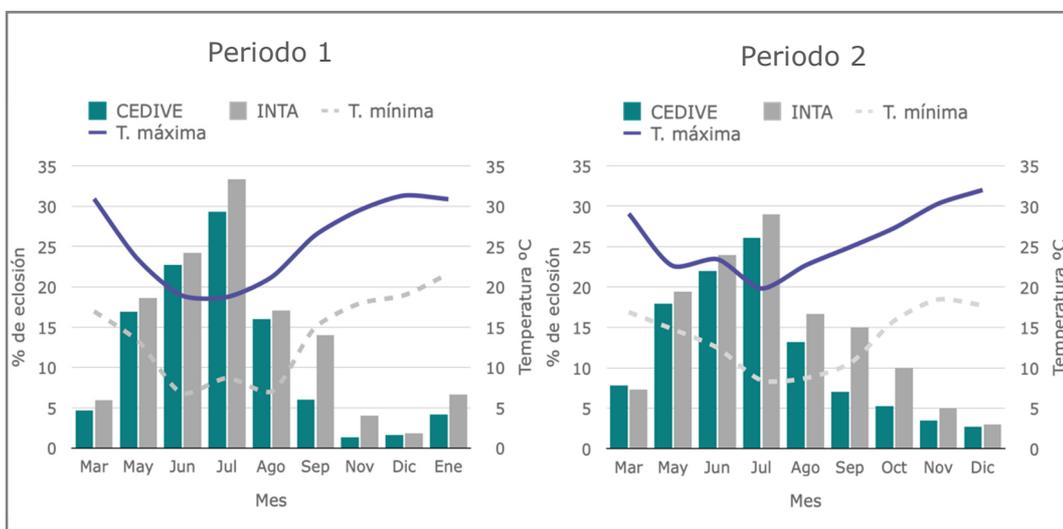


Figura 16. Temperaturas máximas y mínimas y su relación con el porcentaje de eclosión.

La humedad del ambiente juega un papel importante en la eclosión de los huevos y en el desarrollo de las larvas. Una humedad relativa promedio de 85% con rangos entre 70% y 100% es necesaria para obtener un mayor porcentaje de eclosión de los huevos (Hsu y col., 1977).

En este caso la humedad relativa en los periodos estudiados tiene una moderada correlación en los porcentajes obtenidos ($R^2=0,399$), sin embargo, con una asociación positiva. Los porcentajes de eclosión más elevados se obtienen en aquellos meses donde la humedad relativa es más alta (Fig. 17).

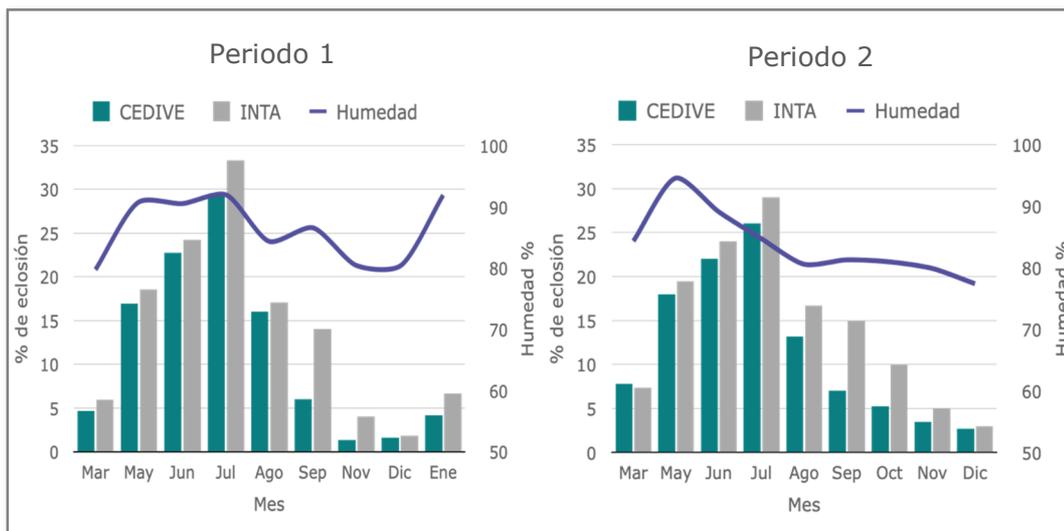


Figura 17. Humedad ambiental y su relación con el porcentaje de eclosión.

La radiación solar²¹ presenta una correlación moderada ($R^2=0,579$) negativa, ya que, en los meses con temperaturas máximas elevadas, diciembre, enero y febrero donde la radiación solar alcanza sus niveles máximos, el porcentaje de eclosión de las larvas empieza a disminuir (Fig. 18). En el caso de las horas frío, el porcentaje de eclosión presenta una correlación mesurada ($R^2=0,435$), aunque positiva (Fig. 19).

²¹ Conjunto de radiaciones electromagnéticas emitidas por el sol que se propagan en todas las direcciones a través del espacio, que determina la dinámica de los procesos atmosféricos y el clima.

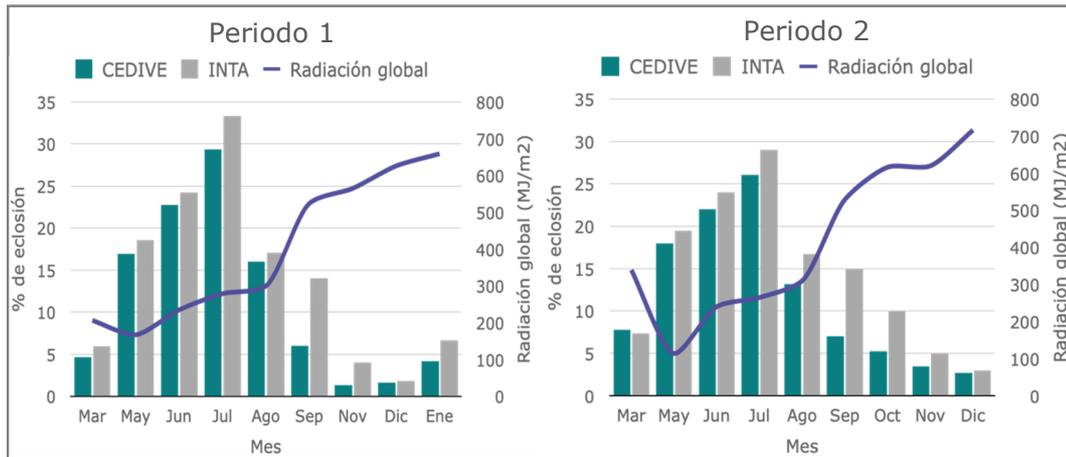


Figura 18. Radiación solar y su relación con el porcentaje de eclosión para los dos periodos y las dos cepas estudiadas.

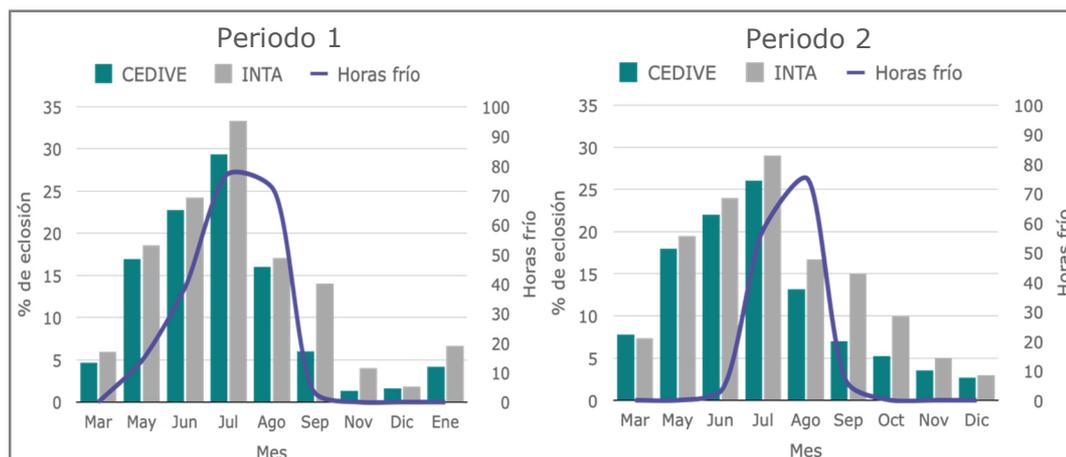


Figura 19. Horas frío y su relación con el porcentaje de eclosión para los dos periodos y las dos cepas estudiadas.

Las precipitaciones influyen principalmente en la migración larval y la evapotranspiración en la humedad generada a partir de las plantas, sin embargo, la relación entre la acumulación de las

precipitaciones y la temperatura que como resultado afecta el balance hídrico, crea el microclima necesario que favorece o no la supervivencia de las larvas fuera del refugio, que en el caso de los bovinos es el equivalente al ambiente propio de la materia fecal, más no en el caso de los ovinos (Illanes, 2021). Debido al modelo de coprocultivos utilizado en este estudio, estas características no tienen influencia en el análisis de la incubación de los huevos y el desarrollo de las larvas. Se observó que las primeras L₃ tanto para la cepa CEDIVE como la cepa INTA aparecen dentro de los primeros 5 a 7 días de iniciada la incubación de los huevos y los valores máximos se obtienen después del día 14 (Fig. 20).

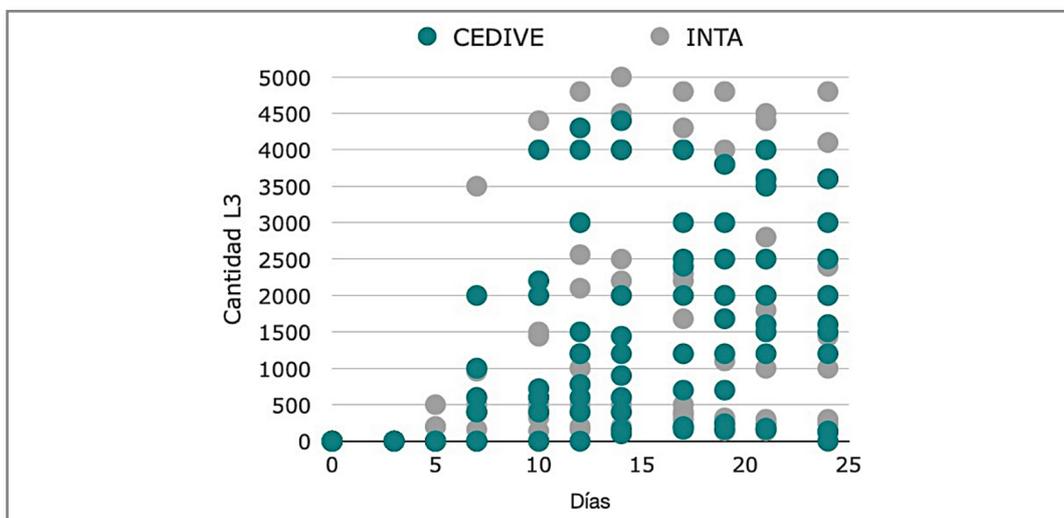


Figura 20. Gráfico de dispersión con la cantidad de L₃ recuperadas para las dos cepas en los dos periodos.

3.3. Contaminación de las parcelas

La contaminación de las parcelas para cada una de las cepas y los periodos estudiados se realizó con un nivel mínimo de 22.500.000 de huevos totales, es decir, 150.000 huevos/m², en un periodo promedio de 8 semanas (55 días) desde la inoculación con L₃ a los animales sembradores hasta la salida de éstos de las parcelas. Los niveles y tiempos de contaminación entre los dos periodos ($p=0,70$), entre la misma estación de cada periodo ($p=0,51$) y entre las dos cepas ($P=0,37$) no presentaron diferencias significativas. Entre la finalización de los rastreos del periodo 1 y el inicio de las contaminaciones del periodo 2, transcurrieron 135 días para la parcela de otoño, 185 días para la de invierno, 200 días para la de primavera y 285 días para la de verano.

En el periodo 1, los animales fueron introducidos en las parcelas cuando el resultado del HPG fue igual o superior a 500, luego de la inoculación con L₃. La cantidad de huevos eliminados al ambiente fue de 196.000/m² en promedio para la cepa CEDIVE y de 210.000/m² para la cepa INTA en el periodo estudiado (Tabla 15).

	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
	(abril)	(julio)	(octubre)	(diciembre)
Inicio de la contaminación	11/4/17	19/7/17	12/10/17	21/12/17
Nivel de contaminación huevos/m ² cepa CEDIVE	190.000	195.000	185.000	210.000
Nivel de contaminación huevos/m ² cepa INTA	230.000	230.000	200.000	180.000

Tabla 15. Fecha de inicio y nivel de contaminación para cada una de las parcelas en el periodo 1.

Tomando como día 0 la inoculación con las L₃, la contaminación en cada una de las cuatro parcelas y para las dos cepas estudiadas se inició en la semana 3 (día 21) post-inoculación, y se logró en un periodo de tiempo no mayor de 8 semanas. El valor obtenido de HPG más alto se observó en la parcela de otoño para la cepa INTA. El periodo de contaminación más cortó se logró en un tiempo de 5 semanas (35 días) para la parcela de primavera y la cepa CEDIVE (Fig. 21).

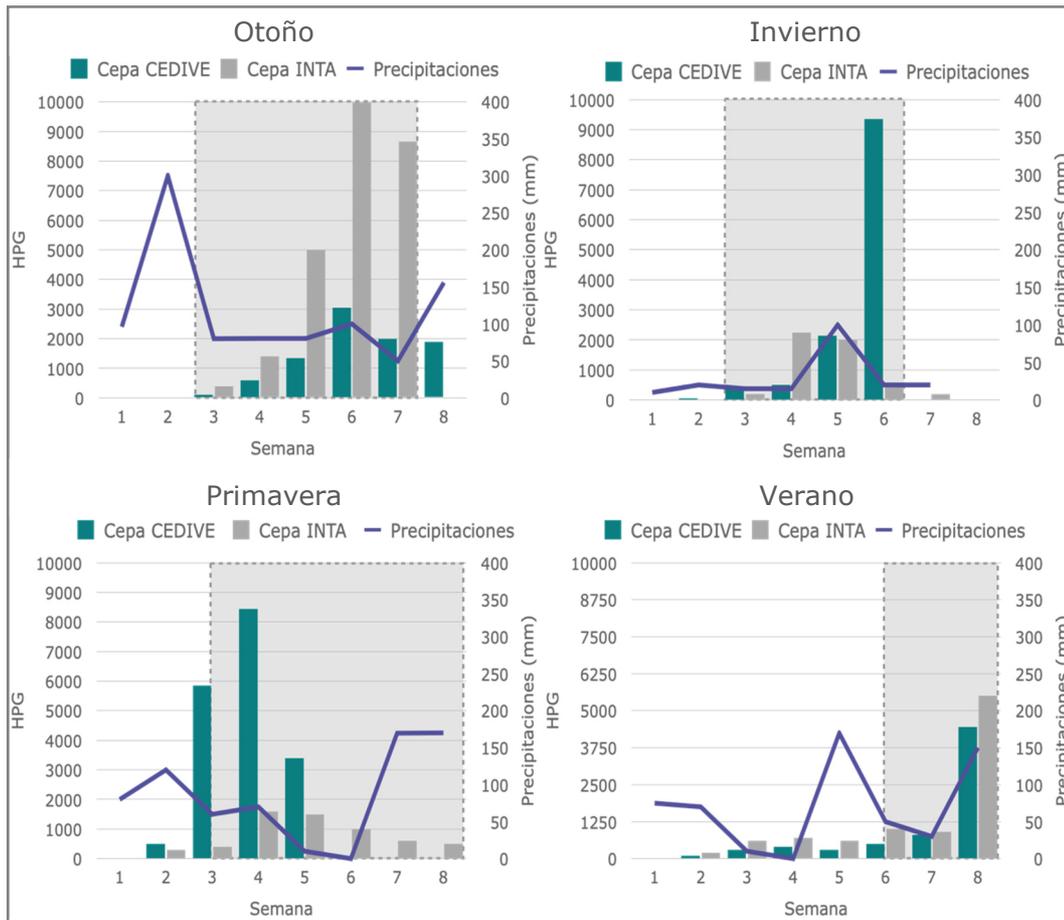


Figura 21. Contaminaciones del periodo 1. Recuentos de HPG en cada semana post-inoculación. El área sombreada representa el momento de entrada y salida de los animales sembradores, así como el tiempo de contaminación.

Para el periodo 2, al igual que en el periodo 1 los animales sembradores fueron llevados a las respectivas parcelas cuando el valor de HPG individual fue igual o superior a 500. La cantidad de huevos eliminados al medio ambiente fue de 190.000/m² en

promedio para la cepa CEDIVE y de 185.000/m² para la cepa INTA. (Tabla 16).

	Otoño (abril)	Invierno (julio)	Primavera (octubre)	Verano (diciembre)
Inicio de la contaminación	18/4/18	10/7/18	5/10/18	28/12/18
Nivel de contaminación huevos/m ² Cepa CEDIVE	200.000	200.000	160.000	190.000
Nivel de contaminación huevos/m ² Cepa INTA	185.000	180.000	170.000	200.000

Tabla 16. Fecha de inicio y nivel de las contaminaciones para cada una de las parcelas en el periodo 2.

La contaminación de las parcelas al igual que en el periodo 1 se inició en la semana 3 (día 21) post-inoculación y se logró igualmente en un periodo de tiempo no mayor de 8 semanas. El periodo de contaminación más cortó se alcanzó en un tiempo de 6 semanas (42 días) para la parcela de invierno y la cepa CEDIVE (Fig. 22). El valor obtenido de HPG más alto se registró en la parcela de verano también para la cepa CEDIVE.

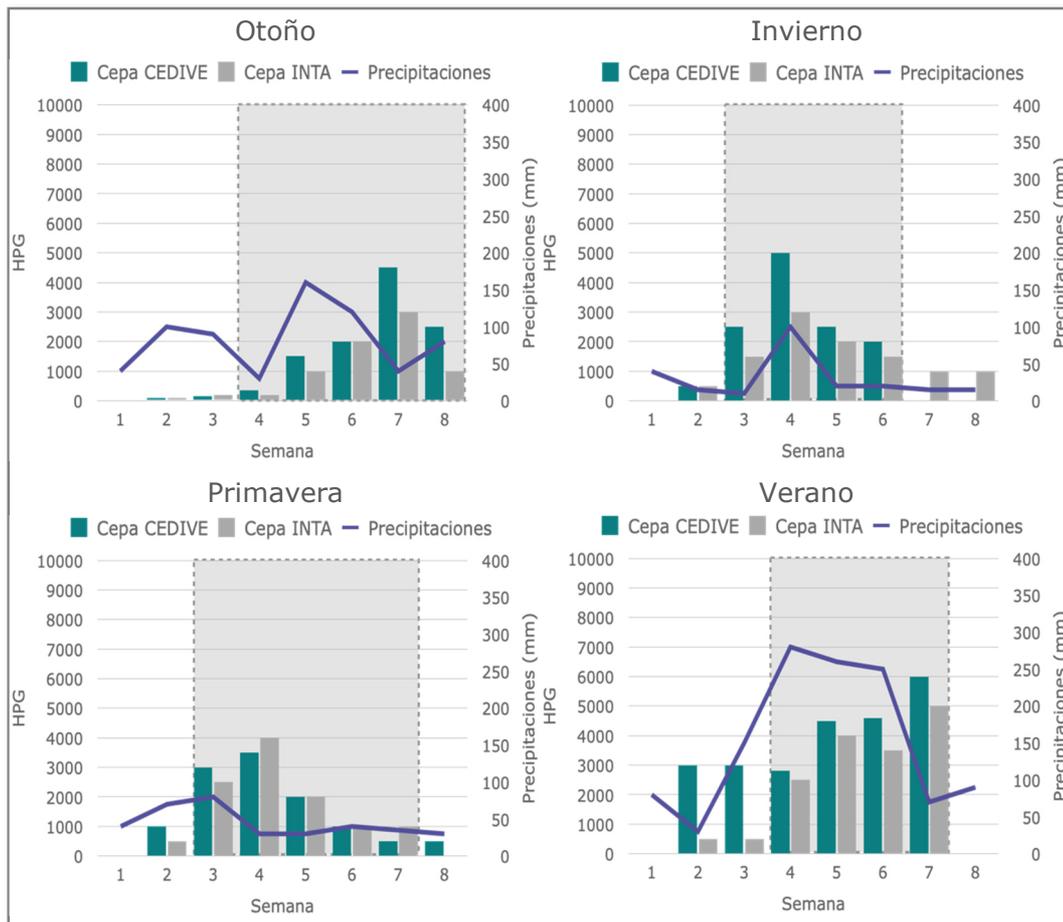


Figura 22. Contaminaciones del periodo 2. Recuentos de HPG en cada semana post-inoculación. El área sombreada representa el momento de entrada y salida de los animales sembradores, así como el tiempo de contaminación.

Es importante conocer la relación entre la cantidad de huevos/m² liberados a la pastura y el porcentaje de eclosión de la prueba de desarrollo larval, ya que los porcentajes de eclosión en cada mes del año pueden hacer variar la interpretación de la contaminación posterior basada en el valor de HPG (Fig. 23).

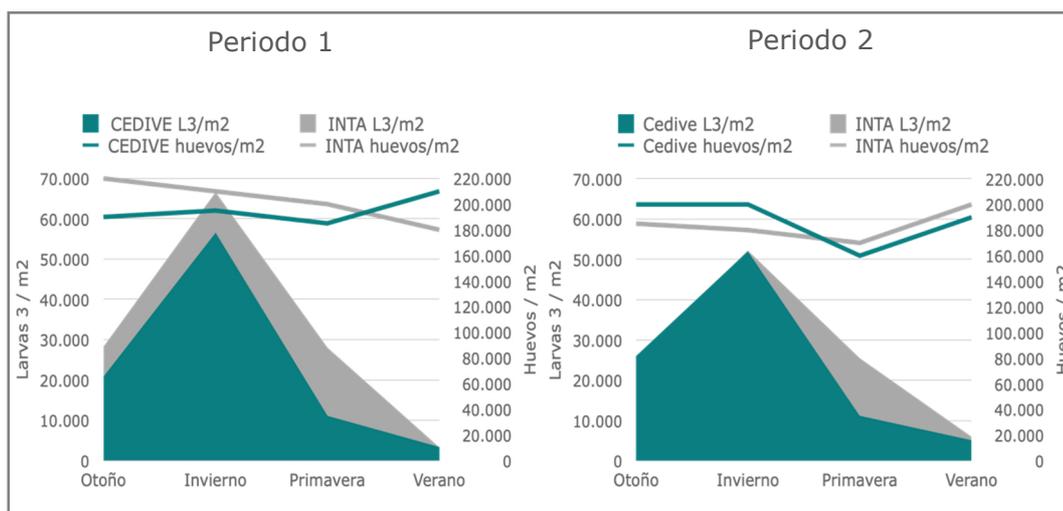


Figura 23. Nivel de contaminación en huevos y L₃ por m².

3.4. Rastreo de las parcelas

En los recuentos calculados con el promedio de los 2 animales de adultos de *H. contortus* en las necropsias, se observó que la cantidad de éstos disminuye a medida que transcurren los meses desde la siembra. También se observó que este recuento es similar tanto para las dos cepas como para los dos periodos (Tablas 17 y 18).

Mes	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA
Junio	2150	2500	-	-	-	-	-	-
Julio	2450	2600	-	-	-	-	-	-
Agosto	1350	1200	-	-	-	-	-	-
Septiembre	550	675	-	-	-	-	-	-

Octubre	375	550	4200	4850	-	-	-	-
Noviembre	50	100	300	200	-	-	-	-
Diciembre	0	0	50	50	-	-	-	-
Enero	-	-	0	0	1225	1075	-	-
Marzo	-	-	-	-	375	400	600	675
Abril	-	-	-	-	0	0	0	0

Tabla 17. Recuentos de los rastreos calculados con el promedio de adultos totales de *H. contortus* de 2 animales para las dos cepas por mes en las necropsias para el periodo 1.

Mes	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA	CEDIVE	INTA
Julio	2750	2775	-	-	-	-	-	-
Agosto	1950	2400	-	-	-	-	-	-
Septiembre	2125	2650	3975	4550	-	-	-	-
Octubre	300	700	2050	700	-	-	-	-
Diciembre	25	425	550	125	1575	1425	-	-
Enero	0	0	0	0	325	300	-	-
Marzo	-	-	0	25	150	125	775	950
Mayo	-	-	-	-	0	0	200	125
Junio	-	-	-	-	-	-	0	0

Tabla 18. Recuentos de los rastreos calculados con el promedio de adultos totales de *H. contortus* de 2 animales para las dos cepas por mes en las necropsias para el periodo 2.

En cuanto al tiempo de supervivencia de las larvas se encontró que existen diferencias significativas para cada una de las estaciones del año ($p < 0,05$). Las larvas sembradas en otoño tienen un tiempo de supervivencia más largo con hasta 32 semanas (7,4 meses) respecto de las sembradas en las demás estaciones. El tiempo más corto se observó en aquellas sembradas en verano con un tiempo de hasta 15 semanas (3,4 meses) (Fig. 24 a 27). En cuanto a las cepas no se observaron diferencias significativas entre ellas respecto de esta variable ($p = 0,93$), al igual que para los dos periodos en estudio ($p = 0,91$).

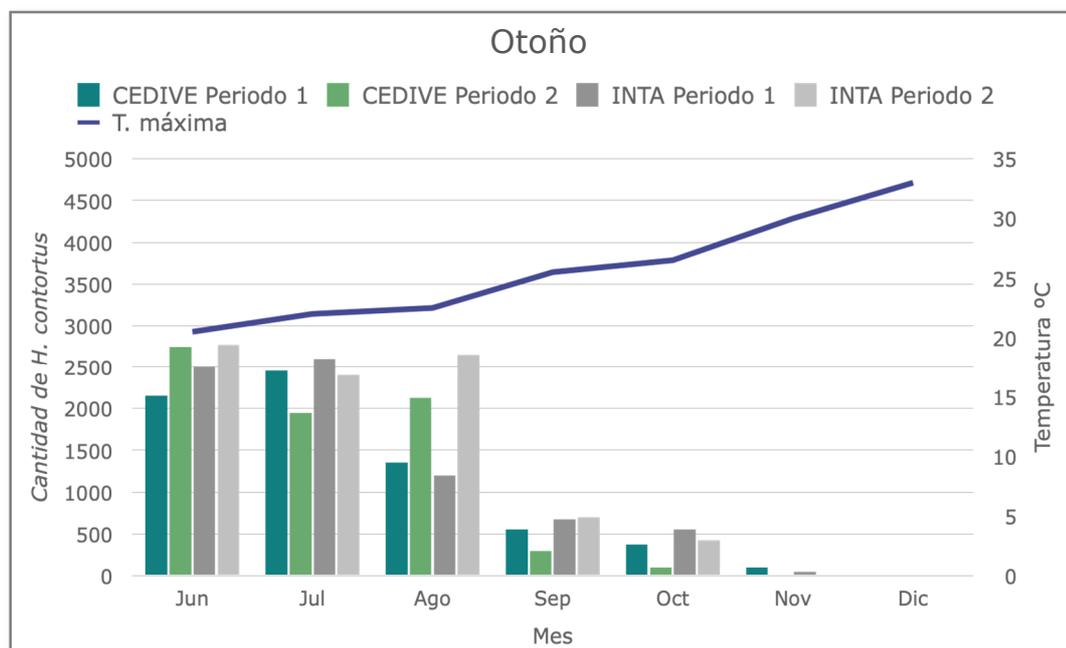


Figura 24. Gráfico de la parcela de otoño con la cantidad de adultos de *H. contortus* en las necropsias, mes y temperatura máxima.

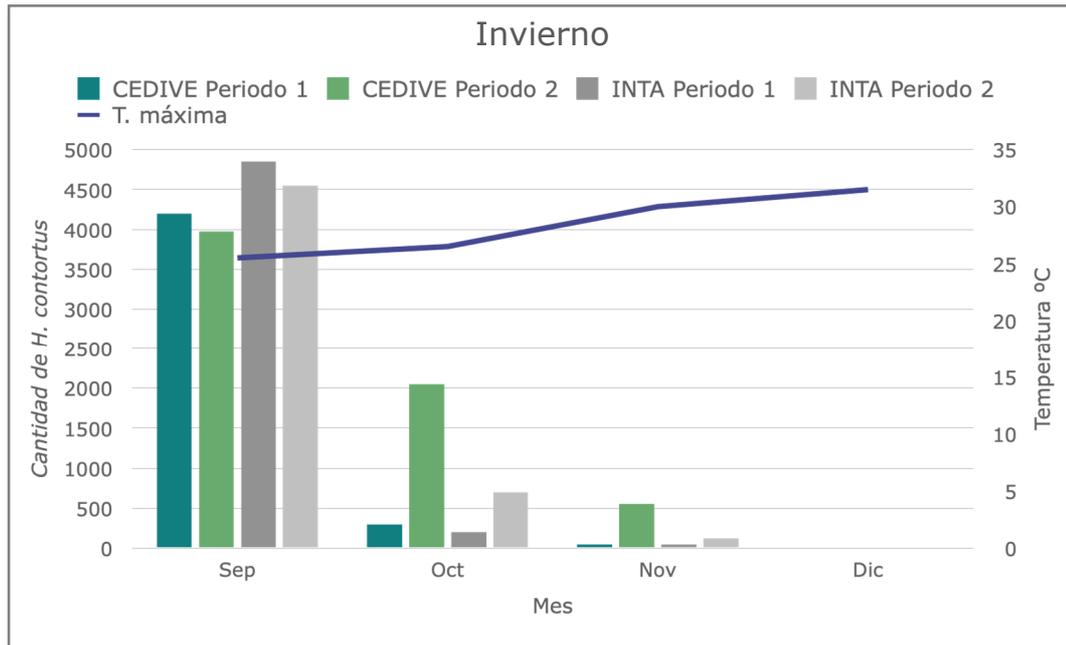


Figura 25. Gráfico de la parcela de invierno con la cantidad de adultos de *H. contortus* en las necropsias, mes y temperatura máxima.

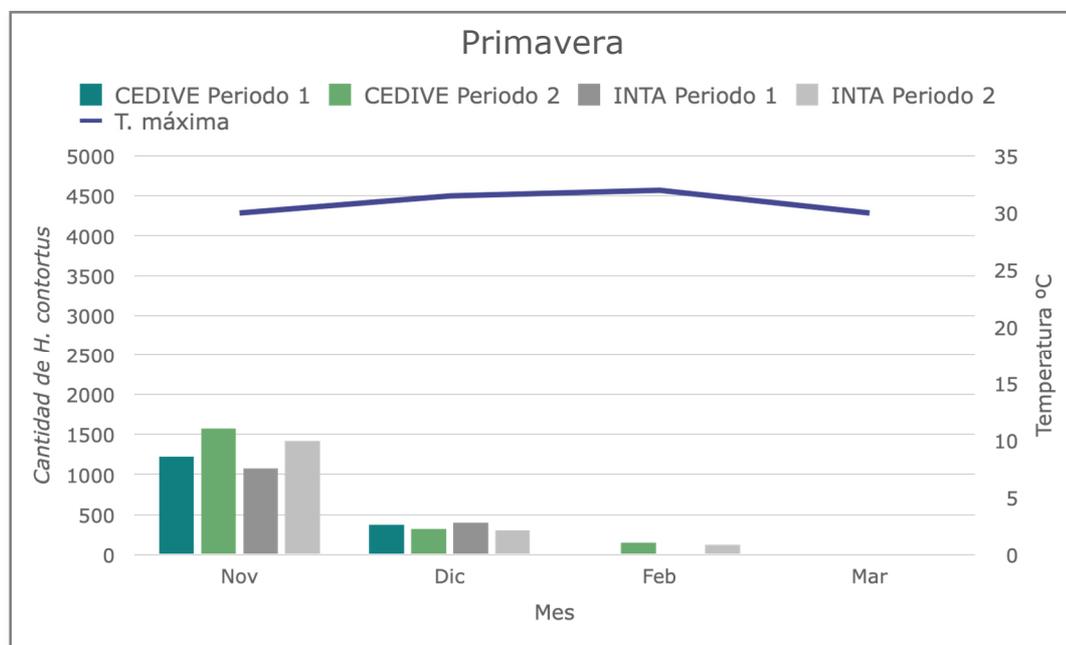


Figura 26. Gráfico de la parcela de primavera con la cantidad de adultos de *H. contortus* en las necropsias, mes y temperatura máxima.

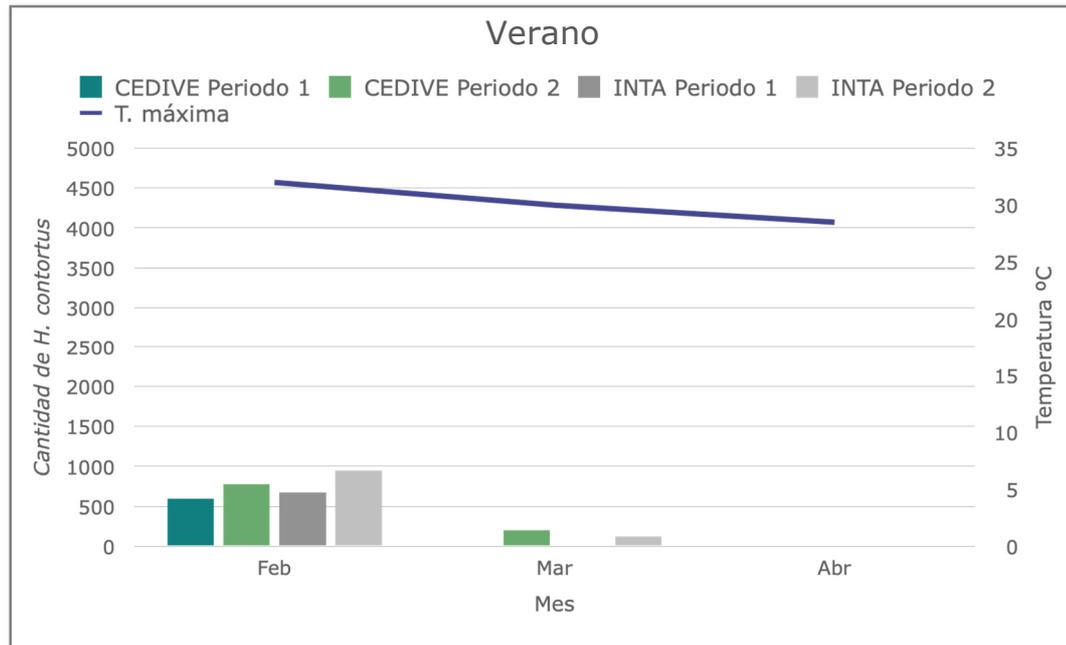


Figura 27. Gráfico de la parcela de verano con la cantidad de adultos de *H. contortus* en las necropsias, mes y temperatura máxima.

Al analizar la influencia de los factores climáticos, temperatura máxima, media y mínima, humedad, precipitaciones, evapotranspiración, balance hídrico y almacenaje total de agua en el suelo mediante un modelo lineal general con medidas repetidas²², y su relación en conjunto para las dos cepas y los dos periodos estudiados no se encontraron diferencias significativas ($p=0,91$) en relación con los tiempos de supervivencia de las larvas, excepto para la temperatura máxima y almacenaje total de agua en el suelo que mediante un segundo análisis de

²² Estudia el efecto de uno o más factores cuando al menos uno de ellos es un factor intrasujetos, y, además, un mismo caso participa de todas las condiciones o cuando se tiene múltiples valores en el tiempo.

regresión, se observaron diferencias que se detallan más adelante. Los datos obtenidos de las necropsias se organizaron en una tabla de vida (Tabla 19).

Estación	Semana	Probabilidad de supervivencia	
		INTA	CEDIVE
Otoño	1	1,00	1,00
	22	0,57	0,58
	26	0,13	0,17
	32	0,04	0,04
	33	0,00	0,00
Invierno	1	1,00	1,00
	14	0,76	0,71
	18	0,47	0,42
	22	0,23	0,29
	26	0,19	0,14
	31	0,00	0,00
Primavera	1	1,00	1,00
	12	0,69	0,69
	16	0,53	0,54
	20	0,15	0,08
	27	0,00	0,00
Verano	1	1,00	1,00
	8	0,81	0,79
	12	0,60	0,58
	15	0,23	0,21
	20	0,00	0,00

Tabla 19. Tiempo en semanas y probabilidad de supervivencia para cada cepa y estación del año.

En esta tabla se realizó un análisis de tiempo de seguimiento hasta que ocurre un evento, que en este caso es la muerte de las L_3 para cada cepa y estación del año. La probabilidad en este modelo es obtenida cada vez que ocurre un cambio en el tiempo estudiado.

Una vez obtenida la tabla de vida con los intervalos de tiempo, se realizaron las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, 1958) (Fig. 28 y 29) para cada una de las estaciones del año y las dos cepas estudiadas.

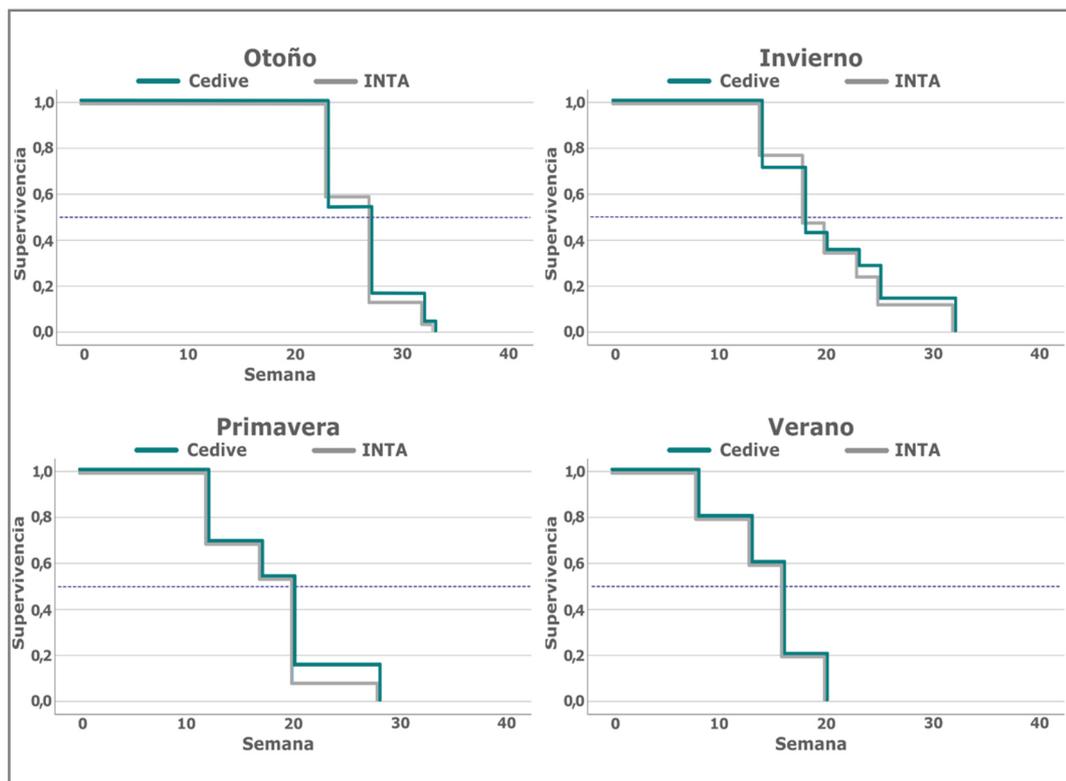


Figura 28. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para cada estación del año y cada cepa.

Estas curvas se graficaron con las mediciones del tiempo transcurrido entre la siembra de las parcelas y el agotamiento de las L₃ encontradas en las necropsias de los animales trazadores. Los valores del eje 'x' representan los intervalos de tiempo (semanas) y los del eje 'y' los de supervivencia.

El análisis de riesgos proporcionales de Cox (Hosmer y col., 2008) basado en modelos de regresión que permite analizar la influencia de predictores, demostró que no existe un efecto cepa ($p=0,947$), ni de periodo ($p=0,788$) en la supervivencia de las L₃. Sin embargo, la estación del año es un factor influyente en la sobrevivencia de las larvas ($p=0,001$) afectando del mismo modo a las dos cepas (Fig. 29). Dentro de los factores climáticos, la temperatura máxima ($HR=0,804$, $IC95\%$ $[0,729-0,886]$, $p=0,001$) y el almacenaje total ($HR=0,914$, $IC95\%$ $[0,951-0,998]$, $p=0,001$) son factores predictivos que influyen en la supervivencia de las L₃. Cuando las temperaturas máximas son muy altas, propias del verano en la región, aquellas L₃ presentes en las pasturas tienen un 80% de riesgo de morir y si a esto se le suman periodos donde el almacenaje total es bajo el riesgo aumenta hasta un 91%. Este riesgo, que es la probabilidad y el peligro de morir, es igual sin importar la estación del año en que fueron sembradas, ya que los factores que influyen directamente son la temperatura máxima y el almacenaje total. De igual manera, aquellas larvas sembradas en verano presentaron un

riesgo 9,2 veces mayor de morir, las de primavera 3,5 y las de invierno 2,1, que aquellas sembradas en otoño.

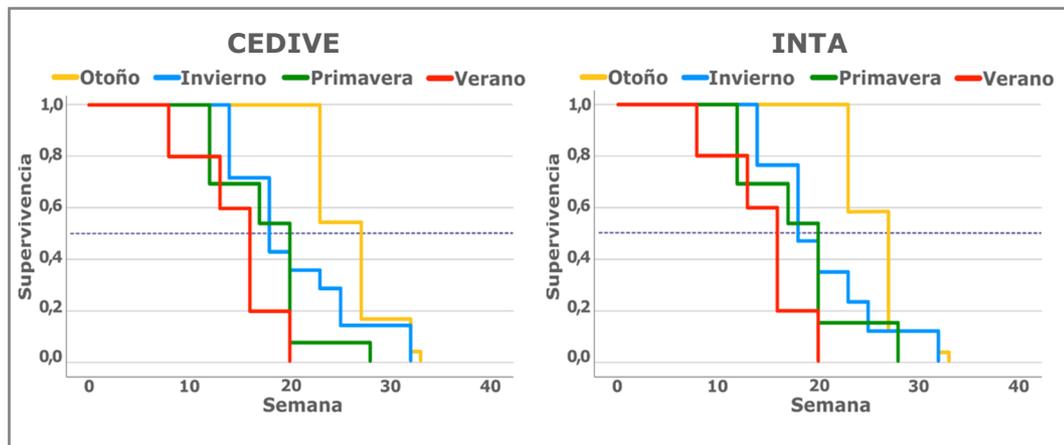


Figura 29. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. Se analizaron los 2 periodos con las 4 estaciones correspondientes y las 2 cepas en estudio.

Respecto del fenómeno de hipobiosis, en las necropsias no se encontraron larvas inhibidas para ninguna de las cepas ni parcelas de las diferentes estaciones del año. En la región, la hipobiosis en *H. contortus* es inferior al 5% (Illanes, 2021), debido a que las temperaturas mínimas no son limitantes para su desarrollo.

4. Discusión

Existen numerosas investigaciones realizadas sobre las fases de vida libre de los nematodos gastrointestinales en ovinos (Pereira y col., 2006; O'Connor y col., 2006; Silva y col., 2008;

Wang y col., 2014; Gasser y col., 2016). El conocimiento de los efectos ambientales brinda un gran apoyo para el manejo y control integrado de los parásitos. Desde la década de 1970, las investigaciones sobre la supervivencia de las L₃ de las diferentes especies de nematodos han aportado información valiosa para el manejo del pastoreo en ovinos en diferentes regiones. Estudios de laboratorio han determinado el papel de los factores climáticos y ecológicos en el desarrollo de las fases de vida libre, indicando los umbrales y las condiciones óptimas para este desarrollo. Por ejemplo, las temperaturas para el óptimo desarrollo de L₃ oscila entre los 20 °C y 30 °C con una humedad superior al 80%, y la sobrevivencia de los estadios de vida libre es más eficiente con temperaturas medias máximas superiores a 18 °C y precipitaciones de 50 mm mensuales (Coyne y col., 1992).

Por otro lado, estudios realizados a campo han permitido medir el desarrollo y la supervivencia de las fases de vida libre (Pereira y col., 2006; O'Connor y col., 2006), sin embargo, la complejidad de los efectos con las interacciones ambientales, dificultan la cuantificación de la influencia en estas condiciones. Anteriormente, la dependencia de los promedios meteorológicos para predecir la infectividad de las pasturas ha enmascarado el hecho de que el desarrollo puede verse limitado por la esperanza de vida relativamente corta de las primeras fases de vida libre

(Barger y col., 1972), por lo que las fluctuaciones diarias del clima y el ambiente juegan un papel importante en la infectividad de las pasturas.

El nivel de contaminación, el éxito y velocidad en el desarrollo de huevo a L₃, la migración larvaria y la supervivencia de las larvas infestantes son factores a veces independientes, cuando el producto es la infectividad de una pastura, y no siempre se explican juntos en relación con los factores macroclimáticos. El microclima alrededor de las fases de vida libre enmarca la efectividad y la velocidad en el que transcurren estos factores, donde las temperaturas, la humedad, las precipitaciones y el almacenaje total de agua en el suelo, propios de cada estación del año son las principales variables involucradas.

Durante los periodos de contaminación la eficiencia del protocolo demostró que los valores de HPG ascienden a partir de la 3 semana (21 días) y alcanzan su valor máximo entre las semanas 6 y 7 post-inoculación (42 - 49 días). El periodo de tiempo más corto se logra en la estación de primavera con 5 semanas (35 días), sin embargo, no se existen diferencias significativas ($P=0,51$) con las demás estaciones. Esto es clave cuando en situaciones reales de contaminación natural se proyecta el impacto en la contaminación de las pasturas y luego en la expresión y duración de ésta.

A continuación, en el desarrollo larval, las primeras L₃ en todos los casos aparecen entre el día 5 y 7 desde la siembra o liberación de los huevos. Los porcentajes de eclosión más altos se dan en el mes de julio (invierno) con 33% y 29% para la cepa INTA y CEDIVE respectivamente, época en la que las temperaturas máximas no son tan elevadas. Estos porcentajes a lo largo del año no evidenciaron diferencias significativas entre periodos ($p=0,918$) ni entre cepas ($p=0,859$). Las temperaturas altas en la región influyen de manera negativa en el desarrollo de las larvas, ya que cuando la temperatura asciende y llega a valores similares al verano, el porcentaje de L₃ empieza a disminuir ($R^2=0,856$), en parte debido a que estas temperaturas aumentan la tasa metabólica, agotando las reservas de energía de éstas, ocasionándoles la muerte. Por otro lado, las temperaturas mínimas presentan una asociación menor ($R^2=0,632$) aunque con una influencia menos marcada. La humedad ambiental, necesaria para el desarrollo de huevo a L₃, aunque presentó una asociación positiva, no es muy fuerte ($R^2=0,399$), sin embargo, es posible apreciar que los mejores porcentajes de eclosión se obtienen en los meses en que la humedad relativa estuvo por arriba del 80%, sin olvidar que estos porcentajes mantienen a las L₃ activas, y, por lo tanto, les genera un gasto energético. En resumen, las temperaturas máximas elevadas son la principal limitante para el desarrollo de las larvas, por lo tanto, el verano es la estación en

la cual este desarrollo es menor o casi nulo. La humedad si bien es un factor importante, solo es necesario un valor superior al 80% para que el desarrollo sea exitoso. En tanto el balance hídrico que resulta de la relación entre las precipitaciones acumuladas y la evapotranspiración (Pizzio y col., 2021), sostiene la hipótesis de que éstos factores son responsables de las variaciones en la viabilidad y supervivencia de huevos y larvas, respectivamente, en meses en que la lluvia es menos abundante y las temperaturas son más bajas. Dentro de los rangos observados en la provincia de Corrientes, la variabilidad de estas condiciones en otoño podrían ser claves para determinar la viabilidad y abundancia de todas las fases de vida libre, donde se propone un nivel crítico de 140 mm en el nivel de almacenaje total de agua en el suelo (Illanes, 2021). Este nivel es inferior principalmente en el primer verano, más no en los otoños o inviernos siguientes, aún cuando las precipitaciones son inferiores a las consideradas como límite para los bioclimatogramas de la región (Gordon, 1953; Levine, 1963) y explican mejor el comportamiento de los porcentajes de eclosión como de supervivencia. Esto es importante debido a que los bioclimatogramas predicen que este período es de menor riesgo, y no resulta así, debido a la mayor influencia de los índices de almacenaje hídrico, especialmente en ambientes donde la parición de las ovejas se produce en pleno invierno.

El presente estudio demostró el éxito en la sobrevivencia de las contaminaciones realizadas en otoño, con un tiempo de supervivencia de 32 semanas (8 meses) observando que las larvas infestantes tienen la capacidad de mantenerse hasta el verano, cuando el descenso de la infectividad en las pasturas es más marcado. Las parcelas que fueron contaminadas en las demás estaciones del año, las L₃ se mantuvieron casi intactas hasta la época estival.

En condiciones de pastoreo, en periodos de un año, la llegada de las condiciones ambientales similares al verano es la principal limitante para la sobrevivencia de las larvas infestantes y no solo el transcurso del tiempo. Las larvas desarrolladas en otoño lograron sobrevivir hasta 8 meses, mientras que aquellas sembradas en las otras estaciones, salvo las de invierno que tuvieron un comportamiento similar a las de otoño, su tiempo de infectividad fue mucho más corto. Por lo tanto, los bajos valores en verano responden a la elevada mortandad de los estadios pre-infectivos y las larvas infestantes. Los resultados de la sobrevivencia en invierno en la región demuestran que *H. contortus* no está presionado a adoptar mecanismos adaptativos como hipobiosis o vías alternativas para sobrepasar el invierno.

En la migración larvaria, cuando la humedad no es un impedimento, la temperatura ejerce una mayor influencia sobre ésta, ya que las tasas de migración son más altas cuando aumenta

la temperatura (Stromberg, 1997). La migración de *H. contortus* se produce en un período de 3 semanas después de la eclosión del huevo, cuando la temperatura más baja es de 15 °C y la humedad está por arriba de 80% (O'Connor y col., 2006). La materia verde y la disponibilidad de agua libre en el suelo proporciona un entorno favorable tanto para el desarrollo como para la migración de las larvas infestantes, sin embargo, esta es una asociación compleja.

La probabilidad de supervivencia en las larvas de otoño cae a 0,5 en la semana 13, las de invierno en la semana 9, las de primavera en la semana 8 y las de verano en la semana 6, cuando las condiciones climáticas varían, principalmente hacia temperaturas máximas más altas. También se observó que el invierno no es un obstáculo para la sobrevivencia de las larvas infestantes, como si lo es el verano.

Cuando se observan los bioclimatogramas según el enfoque clásico (Gordon y col., 1948; Levine y col., 1963) las condiciones de temperatura y precipitaciones ideales serían las de verano, lo que no coincide con lo observado en el presente. Aún considerando que las temperaturas de invierno no sean limitantes, resulta que los niveles de precipitación tienen una correlación negativa con la mayor abundancia de larvas en ese período. Estudios más recientes proponen que deben tenerse en cuenta características del microambiente (O'Connor y col., 2006). Esta situación nos llevó a revisar el modelo de

bioclimatograma, y a considerar su formulación tomando el nivel de almacenaje total de agua en el suelo como variable crítica con un umbral de 140 mm en lugar de las precipitaciones mensuales (Illanes, 2021) y una temperatura máxima mensual de 18° C (Barger y col., 1972; Donald y col., 1978). Encontramos así una mejor explicación para lo que ocurre en el terreno, menor disponibilidad de larvas en verano y mayor acumulación en otoño-invierno, aún con menores niveles de lluvia (Fig. 30).

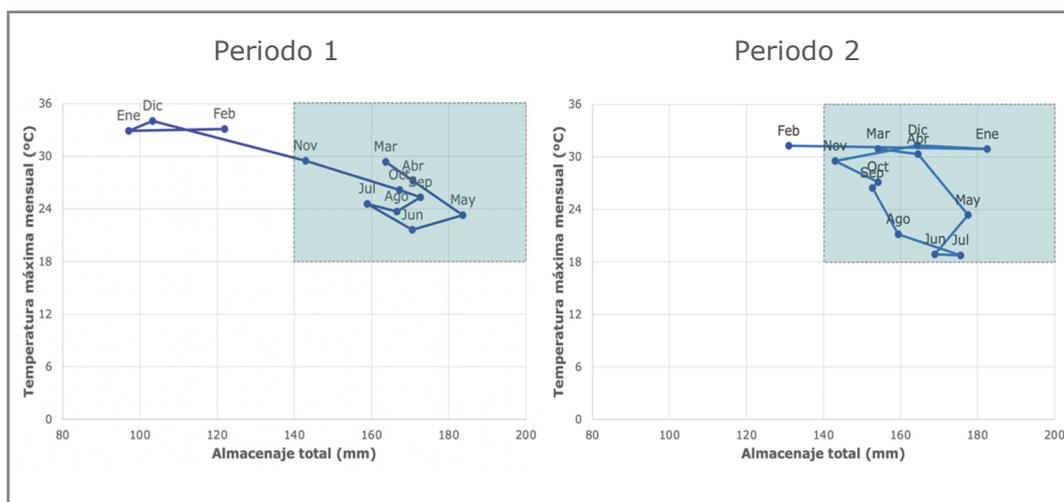


Figura 30. Bioclimatogramas para los dos periodos basados en las temperaturas máximas y el almacenaje total de agua en el suelo mensuales con un nivel crítico de 18 °C (Barger y col., 1972) y 140 mm (Illanes, 2021) respectivamente, para la localidad de Mercedes (Corrientes).

La cepa foránea (cepa CEDIVE) implantada en la región, demostró un comportamiento igual al de la cepa autóctona o cepa INTA, tanto en los tiempos de supervivencia, como en las contaminaciones y el desarrollo larval. Esto sugiere que en este caso la cepa oriunda de zonas templadas y mantenida durante muchas generaciones a través de inoculaciones en laboratorio mantiene su capacidad de adaptación al medio ambiente y no difiere del comportamiento y sobrevivencia propia de la cepa local. Esta condición la hace potencialmente apta para desarrollar protocolos de recambio de cepas (Muchiut y col, 2019), algunos ya ensayados en la zona (Illanes, comunicación personal).

Todos los eventos mencionados están enmarcados en años con estaciones promedio, sin diferencias significativas con respecto a los registros históricos para la región, salvo para el periodo 2 en el que las temperaturas máximas fueron un poco más bajas y las precipitaciones más abundantes, sin embargo, la supervivencia de las L₃ no se vio afectada significativamente. Con toda esta información es posible mejorar modelos predictivos ya establecidos que sean de fácil aplicación para el manejo en tiempo real. La consideración de los niveles de almacenaje total de agua, humedad en el suelo y balance hídrico durante el otoño, podrían ser claves para anticipar niveles de riesgo hacia el invierno, en zonas donde el otoño es muy favorable en términos generales

para la sobrevivencia de las larvas, ya que presenta una gran variabilidad en las condiciones climáticas atravesando niveles críticos observados en el estudio.

5. Conclusiones

En las condiciones climáticas de la región con estaciones climáticas bien definidas, las L₃ de las cepas locales de *H. contortus* pueden llegar a tener un tiempo de sobrevivencia de hasta 8 meses, mientras que las sembradas en verano solo alcanzan un tiempo de sobrevivencia de 3,8 meses. El tiempo de supervivencia más extenso se logra con L₃ que se desarrollaron a partir de huevos eliminados en otoño. La cepa CEDIVE regida por las mismas condiciones climáticas que la cepa INTA, no presenta menos oportunidades de sobrevivir en las cuatro estaciones, demostrando una buena capacidad de adaptación, supervivencia y potencial infectividad. Las altas temperaturas propias del verano son la principal limitante para las dos cepas, en la sobrevivencia de las larvas.

La probabilidad de supervivencia de las L₃ sembradas en otoño, recién desciende a la mitad después de la semana 22, siendo la estación con el periodo de tiempo más largo antes de que esta curva de probabilidad empiece a disminuir. En el resto de las estaciones este tiempo es menor a 18 semanas. Luego de

sobrepasar esta mitad la probabilidad de supervivencia en cada estación cae abruptamente, menos en otoño donde la curva desciende suavemente. También es importante remarcar que esta probabilidad de supervivencia se mantiene en 1,0 hasta la semana 22 para aquellas L₃ sembradas en otoño, mientras que para las demás empieza a caer a partir de la semana 8. En cuanto al riesgo que tienen las larvas de morir dependiendo de la estación del año en que los huevos fueron eliminados a las pasturas, aquellas eclosionadas en verano son las que más riesgo tienen de morir con 9,2 veces más comparadas con las de otoño.

En el desarrollo de las larvas desde la fase de huevo a L₃ en las diferentes estaciones del año y en condiciones de campo, el porcentaje de eclosión más elevado se obtuvo en invierno (julio) con 33% y 29%, y el más bajo en verano (diciembre) con 1,8% y 1,6% para la cepa INTA y la cepa CEDIVE respectivamente. Los bajos porcentajes en verano son debido a las altas temperaturas y la rápida desecación propias de la estación. Al ser poco eficiente como reservorio la materia fecal ovina debido a la forma y pequeño tamaño de ésta y en general a su poca humedad, el porcentaje de eclosión aún en condiciones de temperatura que de por si no es crítica, es muy variable. Al mismo tiempo la viabilidad de las larvas, su traslación y sobrevida en el pasto también es cambiante. Siendo tan prolífico el *H. contortus* y no siendo

necesaria una carga extremadamente elevada de adultos en el abomaso para que el daño sea clínicamente importante, los brotes no pueden ser previsibles solo considerando las condiciones ambientales en general, ya que las condiciones climáticas día a día en cada estación del año y sobre todo las circunstancias en cada establecimiento pueden ser muy variables.

En resumen, si bien las condiciones climáticas de la región son favorables para la supervivencia de las larvas durante todo el año, esta supervivencia a lo largo del año es variable. El otoño se presenta como la estación más beneficiosa para la contaminación, desarrollo y supervivencia de las larvas, siempre que las condiciones climáticas sean representativas de las históricas para la región. Esta estación cumple con los requisitos necesarios para que una población de *H. contortus* a lo largo del tiempo logre establecerse, ya que los tiempos y la probabilidad de supervivencia, así como la posible expansión son los más destacados del año.

Los modelos de simulación cada vez explican mejor las condiciones de riesgo a nivel regional y estacional, pero no han logrado reproducir con exactitud la influencia cuantitativa de todos los factores implicados en la escala predial y en tiempo real, donde la humedad en el microambiente parece influir considerablemente. Esto determina que para el control táctico es

necesario el monitoreo "in situ". Los resultados del presente trabajo agregan elementos claves en la aproximación a explicaciones más precisas y muestran que por lo menos las diferencias de cepa pueden no ser claves en modificar esas predicciones. También sugieren que, sin dejar de considerar otras herramientas estratégicas para evitar y manejar situaciones de resistencia a antihelmínticos, resultaría viable ensayar protocolos de reemplazo de cepas, desde el punto de vista de la adaptación de la cepa CEDIVE. Por otro lado, el momento óptimo para la inoculación puede ser el otoño, considerando el mayor potencial de sobrevida durante las semanas siguientes, además de la presencia de categorías susceptibles para multiplicarse como corderos y ovejas de parición de invierno.

6. Bibliografía

1. Agyei, A.D. 1997. Seasonal changes in the level of infective strongylate nematode larvae on pasture in the coastal savanna regions of Ghana. *Veterinary Parasitology*, 70, 175–182.
2. Abbott, K.A.; Cobb, R.M.; Glass, M.H. 1995. Duration of the persistent activity of moxidectin against *Haemonchus contortus* in sheep. *Aust Vet J*; 72: 408-410.
3. Albers, G.A.; Gray, G.D.; Piper, L.R.; Barber, J.S.; Le Jambre, L.F.; Barger, I.A. 1987. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. *Int. J. Parasitol.* 17: 1355-1367.
4. Albers, G.A.; Le Jambre, L.F. 1983. Erythrocyte potassium concentration: a simple parameter for erythropoiesis in sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.* 35, 273-276.
5. Almeida, F.A.; Garcia, K.C.O.D.; Torgerson, P.R.; Amarante, A.F. 2010. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitology International* 59, 622-625.
6. Alvarez-Sanchez, M.A.; Pérez-García, J.; Cruz-Rojo, M.A.; Rojo-Vazquez, F.A. 2005. Real time PCR for the diagnosis of

- benzimidazole resistance in trichostrongylids of sheep. *Veterinary Parasitology*, 129, 291-298.
7. Álvarez, V.; Hernández, J.; Wing-Ching, R. 2007. Eficacia de aserrines para inhibir el desarrollo *in vitro* de larvas de parásitos gastrointestinales de ovinos. *Agronomía Costarricense*, 31, 71-75.
 8. Amaradasa, B.S.; Lane, R.A.; Manage, R. 2010. Vertical migration of *Haemonchus contortus* infective larvae on *Cynodon dactylon* and *Paspalum notatum* pastures in response to climatic conditions. *Veterinary Parasitology*, 170, 78-87.
 9. Andersen, F.L.; Levine, N.D. 1968. Effect of desiccation on survival of the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis*. *Journal of Parasitology*, 54, 1: 117-128.
 10. Anderson, N.; Dash, K.M.; Donald, A.D.; Southcott, W.H.; Waller, P.J. 1978. Epidemiology and control of nematode infections. In: Donald, A.D.; Southcott, W.H.; Dineen, J.K. (Eds.). *The Epidemiology and Control of Gastrointestinal Parasites of Sheep in Australia*. CSIRO, Australia, pp 23-51.
 11. Andlauer, W.; Fürst, P. 2002. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Research International*, 35, 171-176.
 12. Angulo-Cubillán, F.J.; García-Coiradas, L.; Cuquerella, M.; de la Fuente, C.; Alunda, J.M. 2007. *Haemonchus contortus*

- sheep relationship: a review. Venezuela. Revista Científica FCV-LUZ, 17, 577-587.
13. Anziani, O.S.; Fiel, C.A. 2015. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en la argentina. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 41, 34-46.
 14. Anziani, O.S.; Muchiut, S. 2014. Resistencia antihelmíntica múltiple (closantel, febendazole, ivermectina y levamisol) en *Haemonchus* spp. parasitando a ovinos en la provincia de Santa Fe. Ineficacia de una triple combinación de estas drogas para su control. Rev. Med. Vet. (Buenos Aires, Argentina) 95: 22-27.
 15. Armour, J. 1980. The epidemiology of helminth disease in farm animals. Veterinary Parasitology, 6, 7-46.
 16. Aumont, G.; Gruner, L. 1989. Population evolution of the free-living stage of goat gastrointestinal nematodes on herbage under tropical conditions in Guadeloupe (French West Indies). International Journal Parasitology, 19, 539-546.
 17. Bang, K.S., Familton, A.S., Sykes, A.R., 1990. Effect of copper oxide wire particle treatment on establishment of major gastro-intestinal nematodes in lambs. Res. Vet. Sci. 49, 132-137.

18. Banks, D.J.; Singh, R.; Barger, I.A.; Pratap, B.; Le Jambre, L.F. 1990. Development and survival of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* on pasture in a tropical environment. *International Journal Parasitology*, 20, 155–160.
19. Barger, I.A.; Benyon, P.R.; Southcott, W.H. 1972. Simulation of pasture larval populations of *Haemonchus contortus*. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 9, 38–42.
20. Barger, I. A.; Le Jambre, L. F.; Georgi, J. R. and Davies, H. I. 1985. Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep exposed to continuous infection. *International Journals for Parasitology*, 15, 5, pp 529-533.
21. Barnes, E.H., Dobson, R.J., Donald, A.D., Waller, P.J., 1988. Predicting populations of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae on pasture from meteorological data. *Int. J. Parasitol.* 18, 767–774.
22. Barrere, V.; Alvarez, L.; Suarez, G.; Ceballos, L.; Moreno, L.; Lanusse, C.; Prichard, R.K. 2012. Relationship between increased albendazole systemic exposure and changes in single nucleotide polymorphisms on the beta-tubulin isotype 1 encoding gene in *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 186, 344-349.

23. Bartram, D.J.; Leathwick, D.M.; Taylor, M.A.; Geurden, T.; Maeder S.J. 2012. The role of combination anthelmintic formulations in the sustainable control of sheep nematodes. *Veterinary Parasitology*, 186: 151-158.
24. Bath, G.F.; Malan, F.S.; Van Wyk, J.A. 1996. The FAMACHA[®] ovine anemia guide to assist with the control of haemonchosis. Proceedings. 7th Annual Congress of the Livestock Health and Production Group of the South African Veterinary Association, 5.
25. Berberian, J.F.; Mizelle, J.D. 1957. Developmental studies on *Haemonchus contortus* Rudolphi (1803). *Am. Midland Nat.* 57, 421– 439.
26. Berbigier, P.; Gruner, L.; Mambrini, M.; Sophie, S.A. 1990. Fecal water content and egg survival of goat gastrointestinal strongyles under dry tropical conditions in Guadeloupe. *Parasitol. Res.* 76, 379–385.
27. Besier, R.B.; Dunsmore, J.D. 1993. The ecology of *Haemonchus contortus* in a winter rainfall climate in Australia the survival of infective larvae on pasture. *Veterinary Parasitology*, 45, 293–306.
28. Bisset, S.A.; Morris, C.A. 1996. Feasibility and implications of breeding sheep for resilience to nematode challenge. *Int. J. Parasitol.* 26, 857-868.

29. Blackhall, W.J.; Prichard, R.K.; Beech, R.N.; 2003. Selection at a gamma-aminobutyric acid receptor gene in *Haemonchus contortus* resistant to avermectins/milbemycins. Mol. Biochem. Parasitol. 131, 137-145.
30. Bonino Morlán, J. 2002. Resistencia antihelmíntica de parásitos gastrointestinales en ovinos. Jornada Técnica Parasitosis gastrointestinales de los ovinos: situación actual y avances en la investigación, Durazno, Uruguay.
31. Bowman, D.D. and Georgi, J.R. 2009. Georgis parasitology for veterinarians, Saunders/Elsevier, St. Louis, Mo.
32. Brunsdon, R.V. 1966. Further studies of the effect of infestation by nematodes of the family Trichostrongylidae in sheep; an evaluation of a strategic drenching programme. New Zealand Veterinary Journal, Vol 14(7):77-83.
33. Bullick, G.R.; Andersen, F.L. 1978. Effect of irrigation on survival of third stage *Haemonchus contortus* larvae (Nematoda: Trichostrongylidae). Great Basin Nat. 38, 369-378.
34. Burke, J.M.; Miller, J.E.; Larsen, M.; Terrill, T.H. 2005. Interaction between copper oxide wire particles and *Duddingtonia flagrans* in lambs. Vet. Parasitol. 134, 141-146.
35. Campbell, N.J.; Hall, C.A.; Kelly, J.D.; Martin, I.C. 1978. The anthelmintic efficacy of non-benzimidazole anthelmintics against benzimidazole resistant strains of *Haemonchus*

- contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. Aust. Vet. J. 54, 23-25.
36. Capitini, L.A.; McClure, K.E.; Herd, R.P. 1990. Effect of environmental stimuli on pre-infective and infective stages of *Haemonchus contortus* in the northern United States for the induction of hypobiosis. Veterinary parasitology 35, 281-93.
37. Caracostantogolo, J.; Castaño, R.; Cutullé, C.H.; Cetrá, B.; Lamberti, R.; Olaechea, F.; Plorutti, F.; Ruiz, M.; Schapiro, J.; Martínez, M.; Balbiani, G.; Castro, M.; Morici, G.; Eddi, C. 2005. Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. En Resistencia a los antiparasitarios internos en Argentina Estudio FAO Producción y Sanidad Animal, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma 2005.
38. Cardozo, P. 2019. Caracterización de las especies parasitarias de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos en la puna de Catamarca. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP.
39. Castells, D. 2002. Resistencia genética del ovino a los nematodos gastrointestinales (revisión) "Resistencia genética del ovino y su aplicación en sistemas de control integrado de parásitos" FAO Animal Production and Health Paper. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.

40. Castells, D.; Gayo, V.; Mederos, A.; Martinez, D.; Risso, R.; Rodríguez, A.; Scremini, P.; Olivera, J.; Banchemo, G.; Lima, A.L.; Larrosa, F.; Casaretto, A.; Bonino, J.; Rosadilla, D.; Franchi, M.; Quintana, S. y Quintans, G. 2011. Epidemiological study of gastro-intestinal nematodes of sheep in Uruguay: Prevalence and seasonal dynamics. Proceedings 2nd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Buenos Aires. Argentina, pp 16.
41. Catto, J.B. 1982. Desenvolvimento e sobrevivencia de larvas infestantes de nematodeos gastrintestinais de bovinos, durante a estacao seca, no Pantanal Mato-Grossense. *Pesq. Agropec. Bras.* 17, 923– 927.
42. Cetrá, B.M.; Pereira, M.; Poli, M.; Benítez, D.; Ramírez, J. 2015. Identificación de ovinos resistentes y susceptibles a parásitos. *Noticias y comentarios*, No 529. INTA EEA, Mercedes. ISSN No 0327-3059.
43. Cetrá, B.M.; Pereira M.; Pereyra, M.; Ramírez, J. 2016. Resistencia antihelmíntica en bovinos en provincia de Corrientes y Argentina. *Noticias y comentarios*, No 534. INTA EEA, Mercedes. ISSN No 0327-3059.
44. Chandra, S.; Prasad, A.; Yadav, N.; Latchumikanthan, A.; Rakesh, R.L.; Praveen, K.; Khobra, V.; Subramani, K.V.; Misri, J.; Sankar, M. 2015. Status of benzimidazole resistance

- in *Haemonchus contortus* of goats from different geographic regions of Uttar Pradesh, India. *Vet. Parasitol.* 208, 263-277.
45. Chaudary, F.R.; Qayyum, M.; Miller, J.E. 2008. Development and survival of *Haemonchus contortus* infective larvae derived from sheep faeces under sub-tropical conditions in the Potohar region of Pakistan. *Trop. Anim. Health Prod.* 40, 85-92.
46. Chaudhry, U.; Redman, E.M.; Raman, M.; Gilleard, J.S. 2015. Genetic evidence for the spread of a benzimidazole resistance mutation across southern India from a single origin in the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *International journal for parasitology* 45, 721-728.
47. Claerebout, E. y Vercruysse, J. 2000. The immune response and the evaluation of acquired immunity against gastrointestinal nematodes in cattle: a review. *Parasitology* 120: 25-42.
48. Coles, G.C.; Bauer, C.; Borgsteede, F.H.M.; Geerts, S.; Klei, T.R.; Taylor, M.A.; Waller, P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35-44.
49. Coles, G.C.; Jackson, F.; Pomroy, W.E.; Prichard, R.K.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Silvestre, A.; Taylor, M.A.;

- Vercruyssen, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 136, 167-185.
50. Coles, G.C.; Tritschler 2nd, J.P.; Giordano, D.J.; Laste, N.J.; Schmidt, A.L. 1988. Larval development test for detection of anthelmintic resistant nematodes. *Res. Vet. Sci.* 45, 50-53.
51. Conder, G.A.; Campbell, W.C. 1995. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance, pp. 1-84. In: Baker, J.R.; Muller, R. and Rollinson, D. (Eds.) *Advances in Parasitology*. Academic Press.
52. Connan, R.M. 1975. Inhibited development in *Haemonchus contortus*. *Parasitology* 71, 239-246.
53. Conway, D.P. 1964. Variance in the effectiveness of Thiabendazole against *Haemonchus contortus* in sheep. *American Journal of Veterinary Research* 25, 844-846.
54. Coop, R.L.; Kyriazakis, I. 1999. Nutrition parasite interaction. *Vet. Parasitol.* 84, 187-204.
55. Coyne, M. J. and Smith, G. 1992. The development and mortality of the free-living stages of *Haemonchus contortus* in laboratory culture. *International journal for parasitology*, 22(5), 641-650.
56. Cristel, S. L.; Suárez, V. H. 2006. Resistencia antihelmíntica en ovinos en la región en la región semiárida pampeana. EEA

- INTA Anguil. Investigaciones en Producción Animal. Sanidad 91-94.
57. Crofton, H.D. 1948. The ecology of immature phases of trichostrongyle nematodes. *Parasitology* 39, 17-25.
 58. Crofton, H.D. 1954. The vertical migration of infective larvae of strongyloid nematodes. *J. Helminthol.* 28, 35-52.
 59. d'Assonville, J.A.; Janovsky, E.; Verster, A. 1996. *In vitro* screening of *Haemonchus contortus* third stage larvae for ivermectin resistance. *Vet. Parasitol.* 61, 73-80.
 60. Dargie, J.D.; Allonby, E.W. 1975. Pathophysiology of single challenge infections of *Haemonchus contortus* (In "Merino sheep: studies on red cell kinetics and the 'self-cure' phenomenon"). *Int. J. Parasitol.* 5, 147-157.
 61. Dash, K.M. 1985. Distribution of trichostrongylid nematodes in the abomasum of sheep. *International Journal for Parasitology* 15, 505-510.
 62. Dash, K.M.; Hall, E.; Barger, I.A. 1988. The role of arithmetic and geometric mean worm egg counts in faecal egg count reduction tests and in monitoring strategic drenching programs in sheep. *Aust. Vet. J.* 65, 66-68.
 63. De Gea, G. 2007. El ganado lanar en la Argentina. 2da Ed. Río Cuarto, Córdoba. Universidad Nacional de Río Cuarto. 280p. ISBN 978-950-665-448-1.

64. Demeler, J.; Kuttler, U.; El-Abdellati, A.; Stafford, K.; Rydzik, A.; Varady, M.; Kenyon, F.; Coles, G.; Hoglund, J.; Jackson, F.; Vercruyse, J.; von Samson-Himmelstjerna, G. 2010. Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastrointestinal nematodes of ruminants. *Vet. Parasitol.* 174, 58-64.
65. Donald, A.D. 1968. Ecology of the free-living stages of nematode parasites of sheep. *Aust. Vet. J.* 44, 139-144.
66. Donald, A.D.; Morley, F.H.W.; Waller, P.J.; Axelson, A., Donnelly, J.R. 1978. Availability to grazing sheep of gastrointestinal nematode infection arising from summer contamination of pastures. *Aust. J. Agric. Res.* 29, 180-204.
67. Drudge, J.H.; Leland, S.E.; Wyant, Z.N. 1957. Strain variations in the response of sheep nematodes to the action of phenothiazine 2: Studies on pure infections with *Haemonchus contortus*. *Am. J. Vet. Res.* 18, 317-325.
68. Drudge, J.H., Szanto, J., Wyant, Z.N., Elam, G., 1964. Field studies on parasite control in sheep: comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. *Am. J. Vet. Res.* 25, 1512-1518.
69. Dunn, A.M. 1978. *Veterinary Helminthology*. Second ed. William Heinemann, Medical Books Ltd, pp. 184-185.
70. Dutruel, F.J. y De Caro, A.E.J. 2019. Producción ovina en la Mesopotamia Argentina; Acciones y políticas desarrolladas

- para el sector. Revista de la Facultad de Agronomía UBA, 39 (1) 45-53.
71. Echevarria, F.; Borba, M.F.; Pinheiro, A.C.; Waller, P.J.; Hansen, J.W. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology* 62, 199-206.
 72. Eddi, C.; Caracostantogolo, J.; Peña, M.; Schapiro, J.; Marangunich, L.; Waller, P. J. and Hansen, J. W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Argentina. *Vet. Parasitol.* 62: 189-197.
 73. Entrocasso, C. 1987. Economic impact of gastrointestinal verminosis in the temperate climate areas of South America, with special reference to Argentina. Symposium The economic impact of parasitism in cattle. XXIII World Veterinary Congress, Montreal, Canadá.
 74. Entrocasso, C.; Álvarez, 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. *Veterinary Parasitology* 155, 249-256.
 75. Entrocasso, C.; Lange, R.; Fernández Ripoll, L. 1988. Resistencia antiparasitaria al oxfendazole en ovinos en un

establecimiento de la provincia de Buenos Aires. VI Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias Ciudad de Buenos Aires.

76. Eysker, M.; Ogunsusi, R.A. 1980. Observations on epidemiological and clinical aspects of gastrointestinal helminthiasis of sheep in northern Nigeria during the rainy season. *Res. Vet. Sci.* 28, 58-61.
77. Falzon, L.C.; Menzies, P.I.; Shakya, K.P.; Jones-Bitton, A.; Vanleeuwen, J.; Avula, J.; Stewart, H.; Jansen, J.T.; Taylor, M.A.; Learmount, J.; Peregrine, A.S. 2013. Anthelmintic resistance in sheep flocks in Ontario, Canada. *Vet. Parasitol.* 193, 150-162.
78. FAO - Faostat. Enero 2020. Existencias ovinas. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA>.
79. Fawzi, E.M.; González-Sánchez, M.E.; Corral, M.J.; Alunda, J.M.; Cuquerella, M. 2015. Vaccination of lambs with the recombinant protein rHc23 elicits significant protection against *Haemonchus contortus* challenge. *Vet. Parasitol.* 211, 54-59.
80. Fernández-Long, M.E.; Spescha, L.; Barnatán, I.; Murphy, G. 2012. Modelo de Balance Hidrológico Operativo para el Agro (BHOA). *Rev. Agronomía & Ambiente* 32(1-2): 31-47. FA-UBA, Buenos Aires, Argentina.

81. Fiel, C.; Domínguez, A.; Fernández, A; Saumell, C., 1991. Variación estacional del parasitismo interno de los ovinos en el partido de Ayacucho (Pcia. de Bs. As. Argentina). Su efecto sobre aspectos productivos. X Congreso Latinoamericano de Parasitología, Montevideo, Uruguay.
82. Fiel, C.; Guzmán, M.; Steffan, P.; Rodríguez, E.; Prieto, O., Bhushan, C., 2011. The efficacy of trichlorphon and naphthalophos against multiple anthelmintic-resistant nematodes of naturally infected sheep in Argentina. *Parasitol. Res.* 109, 139-148.
83. Fiel, C. y Nari, A. 2013. Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su prevención y control. Editorial Hemisferio Sur S.R.L. ISBN: 978-9974-674-35-6.
84. Fiel, C.A.; Saumell, C.A.; Fuse, L.A.; Flórez Gálvez, J.; Freije, E.; Iglesias, L. y Steffan, P. 2009. Estudio de la dinámica de la inhibición–desinhibición de *Ostertagia ostertagi* en terneros del centro de la provincia de Buenos Aires. Resultados preliminares. *Revista de Medicina Veterinaria (Buenos Aires)* 2009, 90, (1/2): 4-8.
85. Fiel, C.A.; Steffan, P.E.; Ferreyra D.A. 2011. Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: Técnicas de laboratorio e interpretación de resultados. Programa de

Control Parasitario Sustentable (CPS) Proyecto a cargo de Pfizer. ISBN 978-987-33-1502-2.

86. Fiel, C.A.; Steffan, P.E.; Muchiut, S.M.; Fernandez, A.S.; Bernat, G.; Riva, E.; Lloberas, M.M.; Almada, A. y Homer, D. 2017. An attempt to replace an ivermectin-resistant *Cooperia* spp. population by a susceptible one on grazing pastures based on epidemiological principles and refugia management. *Veterinary Parasitology*, 246, pp 53-59.
87. Fleming, M. W.; Conrad, S. D. 1989. Effects of exogenous progesterone and/or prolactin on *Haemonchus contortus* infections in ovariectomized ewes. *Veterinary Parasitology* 34: 57-62.
88. Folz, S.D.; Pax, R.A.; Thomas, E.M.; Bennett, J.L.; Lee, B.L.; Conder, G.A. 1987. Detecting *in vitro* anthelmintic effects with a micromotility meter. *Vet. Parasitol.* 24, 241-250.
89. Gasser, R.; Samson-Himmelstjerna, G. 2016. *Haemonchus contortus* and Haemonchosis. Past, present and future trends. Volume 93. London, pages 1-666.
90. Geiger, R. 1954. Klassifikationen der Klimate nach W. Köppen. In: Landolf-Börnstein: Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik, (alte Serie), Vol. 3. Springer, Berlin, p 603–607.
91. Ghisi, M.; Kaminsky, R.; Maser, P. 2007. Phenotyping and genotyping of *Haemonchus contortus* isolates reveal a new

- putative candidate mutation for benzimidazole resistance in nematodes. *Vet. Parasitol.* 144, 313-320.
92. Gibbons, L.M. 1979. Revision of the genus *Haemonchus* Cobb, 1898 (Nematoda: Trichostrongylidae). *Syst. Parasitol.* 1, 3-24.
93. Gibbs, H.C. 1982. Mechanisms of survival of nematode parasites with emphasis on hypobiosis. *Veterinary parasitology* 11, 25-48.
94. Gibbs, H.C. 1986. Hypobiosis and the periparturient rise in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice – Vol, 2, (2):* 345-353.
95. Gibson, T.E.; Everett, G. 1976. The ecology of the free-living stages of *Haemonchus contortus*. *Br. Vet. J.* 132, 50–59.
96. Gill, J.H.; Redwin, J.M.; van Wyk, J.A.; Lacey, E. 1991. Detection of resistance to ivermectin in *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 21, 771-776.
97. Gill, J.H., Redwin, J.M., van Wyk, J.A., Lacey, E. 1995. Avermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus* effects of ivermectin resistance. *Int. J. Parasitol.* 25, 463-470.
98. Githiori, J.B.; Athanasiadou, S.; Thamsborg, S.M. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Vet. Parasitol.* 139, 308–320.

99. Giudici, C.; Aumont, G.; Mahieu, M.; Saulai, M.; Cabaret, J. 1999a. Changes in gastrointestinal helminth species diversity in lambs under mixed grazing on irrigated pastures in the tropics (French West Indies). *Veterinary Research* 30, 573-581.
100. Giudici, C.; Cabaret, J.; Durette-Desset, M.C. 1999b. Description of *Haemonchus placei* (Place, 1893) (Nematoda, Trichostrongylidae, Haemonchinae), identification and intraspecific morphological variability. *Parasite* 6, 333-342.
101. González, R.; Cordero Ortega, J.C.; Torres Hernández, G.; Arece García, J.; Mendoza de Gives, P. 2010. The effect of sodium hypochlorite and a citric extract on the reduction of anthelmintic resistant gastrointestinal nematodes in hair sheep. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1, 179–187.
102. Gordon, H.M. 1948. The epidemiology of parasitic diseases, with special reference to studies with nematode parasites of sheep. *Aust. Vet. J.* 24, 17–45.
103. Gordon, H.M. 1953. The epidemiology of helminthosis in sheep in winter-rainfall regions of Australia. 1- Preliminary observations. *Aust. Vet. J.*, 29: 337-348.
104. Green, P.E.; Forsyth, B.A.; Rowan, K.J.; Payne, G. 1981. The isolation of a field strain of *Haemonchus contortus* in Queensland showing multiple anthelmintic resistance. *Aust. Vet. J.* 57, 79-84.

105. Gruner, L.; Mauleon H. and Sauve C. 1982. Migrations of trichostrongyle infective larvae experiments with ovine parasites in soil. *Annales de Recherche Vétérinaire*, 1982, 13, 1, 51-59.
106. Gruner, L.; Suryahadi, S. 1993. Irrigation, faecal water content and development rate of free-living stages of sheep trichostrongyles. *Vet. Res.* 24, 327-334.
107. Guzmán, M. 2014. Transmisión de *Haemonchus contortus* de ovino a bovino. Estudio de relaciones interespecíficas parásito-hospedador aplicando métodos epidemiológicos y moleculares en cepas resistentes y sensibles a bencimidazoles. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Manuscrito en Biblioteca de la UNCPBA.
108. Hall, C.A.; Kelly, J.D.; Whitlock, H.V.; Ritchie, L. 1981. Prolonged anthelmintic effect of closantel and disophenol against a thiabendazole selected resistant strain of *Haemonchus contortus* in sheep. *Res. Vet. Sci.* 31, 104-106.
109. Henriksen, S. and Korsholm, H. 1983. A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. *Nord. Vet. Med.*, 35: 429-430.
110. Hoberg, E.P.; Lichtenfels, J.R.; Gibbons, L. 2004. Phylogeny for species of the genus *Haemonchus* (Nematoda: Trichostrongyloidea): considerations of their evolutionary

- history and global biogeography among Camelidae and Pecora (Artiodactyla). *J. Parasitol.* 90, 1085-1102.
111. Hosking, B.C.; Kaminsky, R.; Sager, H.; Rolfe, P.F.; Seewald, W. 2010. A pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitol. Res.* 106, 529-532.
112. Hosmer, D. W.; Lemeshow, S.; May, S. 2008. *Applied survival analysis: Regression modeling of time-to-event data* (2nd ed.). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
113. Houdijk, J.G.M.; Athanasiadou, S. 2003. Direct and indirect effects of host nutrition on ruminant gastrointestinal nematodes. VI International Symposium on the nutrition of herbivores, Universidad Autónoma de Yucatan, Merida, pp. 213–236.
114. Howell, S.B.; Burke, J.M.; Miller, J.E.; Terrill, T.H.; Valencia, E.; Williams, M.J.; Williamson, L.H.; Zajac, A.M.; Kaplan, R.M. 2008. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the southeastern United States. *J Am Vet Med Assoc*; 233, 1913-1919.
115. Hsu, C.K.; Levine, N.D. 1977. Degree-day concept in development of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* under constant and cyclic conditions. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1115–1119.

116. Hunter, A.R.; Mackenzie, G. 1982. The pathogenesis of a single challenge dose of *Haemonchus contortus* in lambs under six months of age. J. Helminthol. 56, 135-144.
117. Illanes, F.A., 2021. Epidemiología de las trichostrongylosis ovinas en el sur de la provincia de Corrientes. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.
118. Illanes, F.A.; Romero, J.R.; Niño Uribe, A.I. y Pruzzo, C.I. 2018. Primer informe de resistencia antihelmíntica a monepantel en ovinos de la provincia de Corrientes, Argentina. Vet. Arg. Vol. 35 (368) pp 1-7 ISSN 1852-317X.
119. Jackson, F.; Bartley, D.; Bartley, Y.; Kenyon, F. 2009. Worm control in sheep in the future. Small Rumin. Res. 86, 40-45.
120. Jacquet, P.F.; Cabaret, J.; Cheikh, D.; Thiam, E. 1997. Identification of *Haemonchus* species in domestic ruminants based on morphometrics of spicules. Parasitol. Res. 83, 82-86.
121. Jacquet, P.F.; Humbert, J.F.; Comes, A.M.; Cabaret, J.; Thiam, A.; Cheikh, D. 1995. Ecological, morphological and genetic characterization of sympatric *Haemonchus* spp. parasites of domestic ruminants in Mauritania. Parasitology 110, 483-492.
122. Johnstone, L. 1971. Enfoque ecológico para el control de las parasitosis ovinas. INTA. Agropecuaria. 20: 113 páginas.

123. Johnstone, C., 1998. Parasites and Parasitic Diseases of Domestic Animals. University of Pennsylvania. Recuperado de <http://cal.nbc.upenn.edu/merial/>.
124. Kaplan, E. and Meier, P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. Journal of the American Statistical Association, 53(282), 457-481.
125. Kaplan, J.M.; Burke, T.H.; Terrill, J.E.; Miller, W.R.; Getz, S.; Mobini, E.; Valencia, M.J.; Williams, L.H.; Williamson, M.; Larsen, A.F. 2004. Validation of the FAMACHA eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. Veterinary parasitology 123, 105-20.
126. Kaplan, R.M. 2013. Recommendations for control of gastrointestinal nematode parasites in small ruminants: These ain't your father's parasites. The Bovine Practitioner. 47. 97-109.
127. Kaplan, R.M.; Vidyashankar, A.N.; Howell, S.B.; Neiss, J.M.; Williamson, L.H.; Terrill, T.H. 2007. A novel approach for combining the use of *in vitro* and *in vivo* data to measure and detect emerging moxidectin resistance in gastrointestinal nematodes of goats. Int. J. Parasitol. 37, 795-804.
128. Kauffman, J. Parasitic infections of domestic animals. A Diagnostic Manual. Birkhäuser Boston, 1996.

129. Kidane, A.; Houdijk, J.G.M.; Athanasiadou, S.; Tolkamp, B.J.; Kyriazakis, I. 2010. Effects of maternal protein nutrition and subsequent grazing on chicory (*Cichorium intybus*) on parasitism and performance of lambs. *J. Anim. Sci.* 88, 1513–1521.
130. Knox, D. 2013. A vaccine against *Haemonchus contortus*: current status and future possibilities. In: Kennedy, M.W., Harnett, W. (Eds.), *Parasitic Nematodes: Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*. CAB E-books, pp. 245-260. *Agriculture and the applied life sciences*. (Chapter 13).
131. Köppen, W. 1936. Das geographische System der Klimate. In: Köppen W, Geiger R (eds) *Handbuch der Klimatologie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, p 1–44.
132. Kottek, M.; Grieser J.; Beck C.; Rudolf B.; Rubel F. 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Z* 15:259–263.
133. Kotze, A. C. and Prichard, R. K. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*: History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in parasitology*, 93, 397–428.
134. Kotze, A.C.; Le Jambre, L.F.; O’Grady, J. 2006. A modified larval migration assay for detection of resistance to macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*, and drug screening with Trichostrongylidae parasites. *Vet. Parasitol.* 137, 294-305.

135. Krawczyk, A.; Słota, E. 2009. Genetic markers to gastrointestinal nematode resistance in sheep: a review. *Helminthologia* 46, 3-8.
136. Krecek, R.C.; Groeneveld, H.T.; Van Wyk, J.A. 1991. Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigated pasture. *Vet. Parasitol.* 40, 87-98.
137. Kurtz, D.B. 2018. Asistencia técnica para el sector de la producción de la provincia de Corrientes. Cartografía de suelos y evaluación de tierras del Departamento Mercedes, provincia de Corrientes. EEA INTA Corrientes. Recursos Naturales.
138. Kwa, M.S.G., Veenstra, J.G., Roos, M.H. 1994. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in [beta]-tubulin isotype-1. *Mol. Biochem. Parasitol.* 63, 299-303.
139. Larsen, M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious fungi. *Parasitology* 120, 121-131.
140. Le Jambre, L. F. 1995. Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus contortus* infected sheep. *Int. J. for Paras.* 25: 529-273.
141. Learmount, J.; Taylor, M.A.; Smith, G.; Morgan, C. 2006. A computer model to simulate control of parasitic

- gastroenteritis in sheep on UK farms. *Vet. Parasitol.* 142, 312–329.
142. Leathwick, D.M.; Barlow, N.D.; Vlassoff, A. 1992. A model for nematodiasis in New Zealand lambs. *Int. J. Parasitol.* 22, 789–799.
143. Lettini, S.E.; Sukhdeo, V.K. 2006. Anhydrobiosis increases survival of trichostrongyle nematodes. *J. Parasitol.* 92, 1002–1009.
144. Levecke, B.; Dobson, R.J.; Speybroeck, N.; Vercruyse, J.; Charlier, J. 2012. Novel insights in the faecal egg count reduction test for monitoring drug efficacy against gastrointestinal nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 188, 391–396.
145. Levine, N.D. 1963. Weather, climate, and the bionomics of ruminant nematode larvae. In: Brandly, C.A., Jungherr, E.L. (Eds.), *Advances in Veterinary Science*. Academic Press Inc., London, New York, pp. 215–261.
146. Levine, N.D. 1980. *Nematode parasites of domestic animals and of man*, second ed. Burgess Publishing Company, Minneapolis.
147. Levine, N.D.; Todd, K.S.J. 1975. Micrometeorological factors involved in development and survival of free-living stages of the sheep nematodes *Haemonchus contortus* and

- Trichostrongylus colubriformis*. A review. Int. J. Biometeorol. 19, 174–183.
148. Lichtenfels, J.R.; Pilitt, P.A.; Gibbons, L.M.; Hoberg, E.P. 2002. Redescriptions of *Haemonchus mitchelli* and *Haemonchus okapiae* (Nematoda: Trichostrongyloidea) and description of a unique synopse for the Haemonchinae. J. Parasitol. 88, 947-960.
149. Lichtenfels, J.R.; Pilitt, P.A.; Hoberg, E.P. 1994. New morphological characters for identifying individual specimens of *Haemonchus* spp. (Nematoda: Trichostrongyloidea) and a key to species in ruminants of North America. J. Parasitol. 80, 107-119.
150. Lifschitz, A.; Entrocasso, C.; Alvarez, L.; Lloberas, M.; Ballent, M.; Manazza, G.; Virkel, G.; Borda, B.; Lanusse, C. 2010. Interference with P-glycoprotein improves ivermectin activity against adult resistant nematodes in sheep. Vet. Parasitol. 172, 291-298.
151. Little P.R.; Hodge A.; Watson T.G.; Seed J.A.; Maeder S.J. 2010. Field efficacy and safety of an oral formulation of the novel combination anthelmintic, derquantel-abamectin, in sheep in New Zealand. New Zealand Vet J 2010; 58:121-129.
152. Lloberas, M.; Alvarez, L.; Entrocasso, C.; Virkel, G.; Ballent, M.; Mate, L.; Lanusse, C.; Lifschitz, A. 2013. Comparative tissue pharmacokinetics and efficacy of moxidectin,

- abamectin and ivermectin in lambs infected with resistant nematodes: impact of drug treatments on parasite P-glycoprotein expression. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 3, 20-27.
153. Lloberas, M.M. 2018. Evaluación cinético-dinámica *in vivo* e *in vitro* en *Haemonchus contortus* resistente a lactonas macrocíclicas. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA.
154. Lubega, G.W., Prichard, R.K., 1990. Specific interaction of benzimidazole anthelmintics with tubulin: high-affinity binding and benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 38, 221-232.
155. Lukovich, R. 1985. Identificación las formas adultas de los nematodos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes en la República Argentina. Instituto de Patología Animal, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación, República Argentina. Disponible en Red de Helminología de FAO para América Latina y el Caribe.
156. Lyndal-Murphy, M.; Ehrlich, W.K.; Mayer, D.G. 2014. Anthelmintic resistance in ovine gastrointestinal nematodes in inland southern Queensland. *Aust. Vet. J.* 92, 415-420.

157. Martin, R.J. 1997. Modes of action of anthelmintic drugs. *Vet. J.* 154, 11-34.
158. Martínez Ortiz de Montellano, C.; Vargas Magaña, J.J.; Aguilar Caballero, A.J.; Sandoval Castro, C.A.; Cob Galera, L.; May Martínez, M.; Miranda Soberanis, L.; Hoste, H.; Torres Acosta, J.F.J. 2007. Combining the effects of supplementary feeding and copper oxide needles improves the control of gastrointestinal nematodes in browsing goats. *Vet. Parasitol.* 146, 66–76.
159. Martínez Ortiz de Montellano, C.; Vargas Magaña, J.J.; Canul Ku, H.L.; Miranda Soberanis, R.; Capetillo Leal, C.; Sandoval Castro, C.A.; Hoste, H.; Torres Acosta, J.F.J. 2010. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Parasitol.* 172, 283–290.
160. Mauleon, H.; Gruner, L. 1984. Influence de la déshydratation des fèces d'ovins sur l'évolution des stades libres de strongles gastrointestinaux. *Ann. Rech. Vét.*, 15, 4: 519- 528.
161. McKenna, P.B. 1998. The effect of previous cold storage on the subsequent recovery of infective third stage nematode larvae from sheep faeces. *Vet. Parasitol.* 80, 167–172.
162. McKenna, P.B. 2010. Update on the prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in New Zealand. *N.Z. Vet. J.* 58, 172-173.

163. McRae, K.M.; McEwan, J.C.; Dodds, K.G.; Gemmell, N.J. 2014. Signatures of selection in sheep bred for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics* 15, 637-649.
164. Mederos, A.E.; Ramos, Z.; Banchemo, G.E. 2014. First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasit. Vectors* 7, 598.
165. Michel, J.F. 1969. The epidemiology and control of some nematode's infections in grazing animals. *Advances in Parasitology*, 7, 211-282.
166. Michel, J.F. 1974. Arrested development of nematodes and some related phenomena. *Advances in Parasitology*, 12, 279-366.
167. Michel, J.F. 1976. The epidemiology and control of some nematode infections in grazing animals. *Advances in Parasitology*, 14, 355-397.
168. Miller, C.M.; Waghorn, T.S.; Leathwick, D.M.; Candy, P.M.; Oliver, A.M.B.; Watson, T.G., 2012. The production cost of anthelmintic resistance in lambs. *Veterinary Parasitology*, 186, 376-381.
169. Ministerio de Agroindustria. 2017. Indicadores anuales de carne ovina. Histórico 1998-2017. Dirección Nacional de Producción Ganadera. Dirección de Ovinos, Caprinos y Camélidos. Subsecretaría de Ganadería. Secretaria de

Agricultura, Ganadería y Pesca. Ministerio de Agroindustria.
Presidencia de la Nación.

170. Molento M.B.; Wang G.T.; Prichard R.K. 1999. Decreased ivermectin and moxidectin sensitivity in *Haemonchus contortus* selected with moxidectin over 14 generations. *Vet Parasitol*, 86, 77-81.
171. Mönnig, H.O. 1950. *Veterinary Helminthology and Entomology*, third ed. Balliere, Tindall & Cox, London. 427 pp.
172. Montossi, F.; De Barbieri, I.; Ciappesoni, G.; Ganzábal, A.; Banchemo, G.; Luzardo, S. y San Julián, R. 2013. Intensification, diversification, and specialization to improve the competitiveness of sheep production system under pastoral conditions: Uruguay's case. *Animal Frontier* Vol 3(3): 28-35, 2013.
173. Morley, F.H.W.; Donald, A.D. 1980. Farm management and systems of helminth control. *Vet. Parasitol.* 6, 105-134.
174. Muchiut, S.; Fernández, A.S.; Lloberas, M.; Steffan, P.; Luque, S.; Cardozo, P.; Bernat, G.; Riva, E. y Fiel, C., 2019. Recovery of fenbendazole efficacy on resistant *Haemonchus contortus* by management of parasite refugia and population replacement. *Veterinary Parasitology*, 271 pp. 31-37.
175. Mugambi, J.M.; Bain, R.K.; Wanyangun, S.W.; Murray, M.; Stear, M.J.; Ihiga, M.A.; Duncan, J.L. 1997. Resistance of four

- sheep breeds to natural and subsequent artificial *Haemonchus contortus* infection. *Vet. Parasitol.* 69, 265-273.
176. Napoleone, M.; Hoste, H.; Lefrileux, Y. 2011. The use of grazing pastures in goat production: development of an approach to combine optimized use of the forage resource and the control of related risks. In: Bouche, R., Derkimba, A., Casabianca, F. (Eds.), *New Trends for Innovation in the Mediterranean Animal Production*, vol. 129. EAAP Publication, pp. 307–316.
177. Nari, A.; Franchi, M.; Rizzo, E.; Marmol, E.; Mautone, G. 1977. Evaluación de un programa de control de nematodes gastrointestinales en ovinos. Medidas para dilatar la aparición de resistencia antihelmíntica. XXV Jornadas de buiatría. Paysandú, Uruguay.
178. Nari, A.; Petraccia, C.; Solari, M.A.; Cardozo, H. 1987. La inhibición del desarrollo larvario en nematodes gastrointestinales de ovinos con especial referencia a *Haemonchus contortus*. *Veterinaria* 18, 81: 78-85.
179. Nari, A.; Salles, J.; Gil, A.; Waller, P.J. y Hansen, J.W. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 62: 213-222.
180. Neveu, C.; Charvet, C.; Fauvin, A.; Cortet, J.; Castagnone-Sereno, P.; Cabaret, J. 2007. Identification of levamisole

resistance markers in the parasitic nematode *Haemonchus contortus* using a cDNA-AFLP approach. *Parasitology* 134, 1105-1110.

181. Niec, R. 1968. Cultivo e Identificación de Larvas Infestantes de Nematodes Gastrointestinales del Bovino y Ovino. Instituto de Patología Animal, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación, República Argentina.
182. Niño Uribe, A.; Illanes, F.; Pruzzo, C.; Romero, J. Estrategias de Control Parasitario: Evaluación de la concentración en el almacenamiento de larvas de *Haemonchus contortus* en condiciones de laboratorio. 2017. InVet. Buenos Aires: FundaVet. 2017 Vol.19 N°2. ISSN 1514- 6634. eISSN 1668-3498.
183. Nisbet, A.J.; Meeusen, E.N.; Gonzalez, J.F.; Piedrafita, D.M. 2016. Immunity of *Haemonchus contortus* and vaccine development. In: Gasser, R., Samson-Himmelstjerna, G.V. (Eds.), *Haemonchus contortus* and Haemonchosis Past, Present and Future Trends. vol. 93, pp. 353-396.
184. O'Connor, L.J.; Walkden-Brown, S.W.; Kahn, L.P. 2006. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.* 142, 1-15.

185. Pandey, V.S.; Chaer, A.; Dakkak, A. 1989. Effect of temperature on development of the free-living stages of *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.*, 32: 193-197.
186. Papadopoulos, E.; Himonas, C.; Coles, G.C. 2001. Drought and flock isolation may enhance the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Veterinary Parasitology* 97:253-259.
187. Parnell, I.W. 1963. Helminthosis in sheep in western Australia. *Australian Veterinary Journal* 39. Australia, pp. 220-226.
188. Pereira, D.; Castells, D.; Deschenaux, H. 2006. Infectividad de campo natural contaminado con huevos de *Haemonchus contortus* en cuatro estaciones del año. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
189. Pizzio, R. M.; Bendersky, D.; Barbera, P.; Maidana, C. E. 2021. Caracterización y manejo de los pastizales correntinos. EEA INTA Mercedes Centro Regional Corrientes. INTA Ediciones.
190. Playford, M.C.; Smith, A.N.; Love, S.C.J.; Besier, R.B.; Kluver, P.; Bailey, J.N. 2014. Prevalence and severity of anthelmintic resistance in ovine nematodes in Australia (2009-2012). *Aust. Vet. J.* 92, 464-471.
191. Presidente, P.J.A. 1985. Methods for detection of resistance to anthelmintics. In: Waller, P.J., Anderson, N. (Eds.),

- Resistance in Nematodes to Anthelmintic Drugs. CSIRO, Division of Animal Health, Glebe, NSW, Australia, pp. 13–28.
192. Prichard, R.; Lespine, A. 2013. Genética y mecanismos de resistencia a los medicamentos en nematodos. En: Kennedy, M., Harnett, W. (Eds), *Nematodos Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*, segunda ed. CAB International, Wallingford, Reino Unido, págs. 156-183.
193. PROLANA. 2017. Informe de fin de zafra 2016-2017. Sistema de Datos y Estadísticas PROLANA.
194. Ramos, C.I.; Bellato, V.; Ávila, V.S.d.; Coutinho, G.C.; Souza, A.P. 2002. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no estado de Santa Catarina, Brasil. *Ciência Rural* 32, 473-477.
195. Ransom, B.H. 1906. The life history of the twisted wireworm (*Haemonchus contortus*) of sheep and other ruminants. In: B.o.A. Industry (Eds.), *Circular of the United States Bureau of Animal Industries*. United States Department of Agriculture, p. 7.
196. Rees, G. 1950. Observations on the vertical migrations of the third-stage larva of *Haemonchus contortus* (Rud.) on experimental plots of *Lolium perenne* S24, in relation to meteorological and micrometeorological factors. *Parasitology* 40, 127-143.

197. Reynecke, D.P.; van Wyk, J.A.; Gummow, B.; Dorny, P.; Boomker, J. 2011 Validation of the FAMACHA[®] eye colour chart using sensitivity/specificity analysis on two South African sheep farms. *Vet Parasitol.*; 177(3-4):203-11.
198. Riley, D.G.; Van Wyk, J.A. 2009. Genetic parameters for FAMACHA[®] score and related traits for host resistance/resilience and production at differing severities of worm challenge in a Merino flock in South Africa. *Vet. Parasitol.* 164, 44-52.
199. Roberts, F.H. y O'Sullivan, P.J. 1949. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, 1:99-103.
200. Romero, J.; Anziani, O.; Cetra, B.; Fiel C. 2013. Epidemiología e impacto productivo de nematodes gastrointestinales en la región NEA. En: *Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control.* Fiel, C. y Nari, A. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur SRL (Uruguay), 89-112.
201. Romero, J.; Boero, C. 2001. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en las regiones templadas y cálidas de la Argentina. *Revista Analecta Veterinaria* 21, 21-37.

202. Romero, J.; Boero, C.; Aristizábal, M.; Baldo, A. y Vasquez, R. 1998. Estudio de resistencia a antihelmínticos en majadas de la Mesopotamia Argentina. *Rev. Med.Vet.* 79 (5): 342-346.
203. Romero, J.; Boero, C.A.; Prando, A.J.; Baldo, A.; Griffin, B.; Silvestrini, M.P. 1999. Selection of trichostrongylid resistant sheep in argentine farms. 17th International conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology. Copenhagen 15-19 august 1999 Abst.f.304.
204. Romero, J.; Espinosa, G. y Valera, A. 1992. Demostración de resistencia al oxfendazole en trichostrongylidos de ovinos de la zona deprimida del Salado. *Rev. Med. Vet.* 73 (2): 82-86.
205. Romero, J.; Sánchez, R.; Boero, C., 2007. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en la pampa húmeda y la mesopotámica. En: Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Suárez V.H., Olaechea F.V., Romero J.R. y Rossanigo C.E. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Publicación Técnica N.º 70, ISSN 0325-2132, 33-42.
206. Rose, J.H. 1964. Relationship between environment and the development and migration of the free-living stages of *Haemonchus contortus*. *J. Comp. Pathol. Ther.* 74, 163-172.
207. Rossanigo, C.E.; Gruner, L. 1995. Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living

- stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. *J. Helminthol.* 69, 357–362.
208. Rothwell, J.; Sangster, N.C. 1997. *Haemonchus contortus*: the uptake and metabolism of closantel. *Int. J. Parasitol.* 27, 313-319.
209. Rudolphi, K. 1808. Nematodea. *Entozoorum sive vermium intestinalium historia naturalis*. Amsterdam: Vol. 1 pp. 1–527 [252].
210. Sakwa, D.P.; Walkden-Brown, S.W.; Dobson, R.J.; Kahn, L.P.; Lea, J.M.; Baillie, N.D. 2003. Pasture microclimate can influence early development of *Haemonchus contortus* in sheep faecal pellets in a cool temperate climate. In: *Proceedings of the Australian Sheep Veterinary Society*, Cairns, May 25–30, pp. 33–40.
211. Sánchez, R. y Romero, J. 2005. Observaciones sobre la dinámica del parasitismo gastrointestinal en corderos de destete de la Pampa Húmeda. *Rev. Med. Vet* 86 (1): 17-26.
212. Sanderson, M. 1999. The classification of climates from Pythagoras to Köppen. *Bull. Amer. Meteor. Soc.* 80, 669–673.
213. Sangster, N.C.; Davis, C.W.; Collins, G.H. 1991. Effects of cholinergic drugs on longitudinal contraction in levamisole susceptible and resistant *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 21, 689-695.

214. Sangster, N.C.; Redwin, J.M.; Bjorn, H. 1998. Inheritance of levamisole and benzimidazole resistance in an isolate of *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol.* 28, 503-510.
215. Sanyal, P.K.; Knox, M.R.; Singh, D.K.; Hennessy, D.R.; Steel, J.W. 1995. Influence of diet type on the kinetic disposition of fenbendazole in cattle and buffalo. *Int. J. Parasitol.* 25, 1201-1205.
216. Sarai, R.S.; Kopp, S.R.; Coleman, G.T.; Kotze, A.C. 2013. Acetylcholine receptor subunit and P-glycoprotein transcription patterns in levamisole susceptible and resistant *Haemonchus contortus*. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 3, 51-58.
217. Sarai, R.S.; Kopp, S.R.; Knox, M.R.; Coleman, G.T.; Kotze, A.C. 2015. *In vitro* levamisole selection pressure on larval stages of *Haemonchus contortus* over nine generations gives rise to drug resistance and target site gene expression changes specific to the early larval stages only. *Vet. Parasitol.* 211, 45-53.
218. Saumell, C.A.; Fernández, A.S. 2000. Hongos nematófagos para el control biológico de nematodos de los rumiantes. *Rev. Med. Vet.*, 81: 270-273.
219. Scott, I.; Pomroy, B. Paul, K.; Greg, S.; Barbara, A.; Moss, A. 2013. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia*

circumcincta and *Trichostrongylus colubriformis*. Vet Parasitol, 198:166–171.

220. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2018. Ovinos sector primario. SIGSA - Dirección de Control de Gestión y Programas Especiales - Dirección Nacional de Sanidad Animal - SENASA. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/senasa/mercados-y-estadisticas/estadisticas/animal-estadisticas/ovinos>.
221. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2020. Existencias ovinas en Argentina. Dirección de Control de Gestión y Programas Especiales - Dirección Nacional de Sanidad Animal - SENASA <https://www.argentina.gob.ar/senasa/ovinos-sector-primario>.
222. Silverman, P.H.; Campbell, J.A. 1959. Studies on parasitic worms in Scotland. Embryonic and larval development of *Haemonchus contortus* at constant conditions. J. Parasitol. 49, 23-38.
223. Skinner, W.D.; Todd, K.S. 1980. Lateral migration of *Haemonchus contortus* larvae on pasture. Am. J. Vet. Res. 41, 395-398.
224. Silva, B. F.; Amarante, M. R.; Kadri, S. M.; Carrijo-Mauad, J. R.; Amarante, A. F. 2008. Vertical migration of *Haemonchus*

- contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. Veterinary parasitology, 158(1-2), 85–92.
225. Smith, G. 1990. The population biology of the free-living phase of *Haemonchus contortus*. Parasitology 101, 309–316.
226. Smith, W.D. 1993. Protection in lambs immunised with *Haemonchus contortus* gut membrane proteins. Res. Vet. Sci. 54, 94-101.
227. Sommerville, R.I.; Davey, K.G. 2002. Diapause in parasitic nematodes: a review. Canadian journal of zoology. 80, 1817.
228. Southcott, W.H.; Major, G.W.; Barger, I.A. 1976. Seasonal pasture contamination and availability of nematodes for grazing sheep. Aust. J. Agric. Res. 27, 277–286.
229. Steel, J.W. 2003. Effects of protein supplementation on young sheep on resistance development and resilience to parasitic nematodes. Aust. J. Exp. Agric. 12, 1469-1476.
230. Steffan, P.; Sánchez, E.; Entrocasso, C.; Fiel, C.; Lloberas, M.; Riva, E.; Guzmán, M. 2011. Eficacia de monepantel contra nematodos de ovinos con resistencia antihelmíntica múltiple en la Región Templada de Argentina. Vet. Arg. Vol. XXVIII No. 273.
231. Storey, B.; Marcellino, C.; Miller, M.; Maclean, M.; Mostafa, E.; Howell, S.; Sakanari, J.; Wolstenholme, A.; Kaplan, R. 2014. Utilization of computer processed high-definition video imaging for measuring motility of microscopic nematode

- stages on a quantitative scale: "The Worminator". *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 4, 233-243.
232. Stromberg, B.E. 1997. Environmental factors influencing transmission. *Vet. Parasitol.* 72, 247-264.
233. Suárez, V.H. 1985. Parasitosis Gastrointestinal en ovinos Corriedale en la región semiárida pampeana. II resultados período 1981-1983. *Rev. de Prod An* 5. 3-4 pp. 243-55.
234. Suárez, V.H. 1986. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en ovejas en la región semiárida pampeana. *Rev. Med. Vet.* 67 (4): 190-202. 8.
235. Suárez, V.H.; Cabaret, J. 1991. Similarities between species of the Ostertagiinae (Nematoda: Trichostrongyloidea) in relation to host range and climatic environment. *Systematic Parasitology*, 20: 179-185.
236. Suárez, V.H.; Larrea S.; Buseti M.R.; Bedotti D.O.; Bulman G.M.; Ambrustolo R.R. 1990. Nematodes gastrointestinales ovinos: su control y efecto sobre los parámetros epizootiológicos, hematológicos y productivos en la región semiárida pampeana (Argentina). *Therios, Argentina.* 73, 156-173.
237. Suárez, V.H.; Olaechea F.V.; Rossanigo C.E.; Romero J.R. 2007. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el Cono Sur de América. Ediciones

INTA, Publicación técnica No 70. ISSN 0325-2132. Anguil, Argentina.

238. Sutherland, I. and Scott, I. 2010. Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle: biology and control, Wiley-Blackwell, Chichester, U.K.; Ames, Iowa.
239. Taylor, M.A. 1990. A larval development test for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of sheep. Res. Vet. Sci. 49, 198-202.
240. Todd, K.S.; Levine, N.D.; Boatman, P.A. 1976. Effect of temperature on survival of free-living stages of *Haemonchus contortus*. Am. J. Vet. Res. 37, 991-992.
241. Torgerson, P.R.; Schnyder M.; Hertzberg H. 2005. Detection of anthelmintic resistance: a comparison of mathematical techniques. Veterinary Parasitology 128, 291-298.
242. Torres Acosta, J.; Hoste, H. 2008. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. Small Rumin. Res. 77, 159-173.
243. Trewartha, G.T.; Horn, L.H. 1980. Introduction to climate, 5th edn. McGraw Hill, New York, NY.
244. Tsoetsi, A.M.; Njiro, S.; Katsande, T.C.; Moyo, G.; Baloyi, F.; Mpofu, J. 2013. Prevalence of gastrointestinal helminths and anthelmintic resistance on small-scale farms in Gauteng Province, South Africa. Trop. Anim. Health Prod. 45, 751-761.

245. Ueno, H. y Gonçalves, P. 1988. Manual de laboratorio para el diagnóstico de helmintos en rumiantes. 2° ed. Japan International Cooperation Agency Tokyo, Japan P.O. Box 216 Mitsui Bldg. Shinjuku, Tokyo 163, Japan. 166 pp.
246. Uriarte, J.; Gruner, L. 1994. Development and distribution of bovine trichostrongyle infective larvae on a pasture irrigated by flooding or by spraying. *Parasitol. Res.* 80, 657–663.
247. Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J.L.; Dunn, A.N.; Jennings, F.M. 1987. *Haemonchus* spp., pp. 18-22. In: Urquhart, G.M. (Ed.) *Veterinary Parasitology*. Longman Scientific & Technical, Essex, UK. 286 pp.
248. Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J.L.; Dunn, A.M.; Jennings, F.M. 1996. *Veterinary Parasitology*, second ed. Blackwell Science, pp. 19-21.
249. Van den Brom, R.; Moll, L.; Kappert, C.; Vellema, P. 2015. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Vet. Parasitol.* 209, 278-280.
250. Van Dijk, J.; Morgan, E.R. 2011. The influence of water on the migration of infective trichostrongyloid larvae onto grass. *Parasitology* 138, 780-788.
251. Van Wyk J. 2001. Refugia overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort J Vet Res*; 68:55-67.

252. Van Wyk J.; Bath G. 2002. The FAMACHA[®] system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary research* 33, 509-29.
253. Van Wyk, J.; Gerber, H.; Alves, R. 1982. Slight resistance to the residual effect of closantel in a field strain of *Haemonchus contortus* which showed an increased resistance after one selection in the laboratory. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 49, 257-261.
254. Van Wyk, J.; Hoste, H.; Kaplan, R.; Besier, R.B. 2005. Targeted selective treatment for worm management: how do we sell rational programmes to farmers. *Vet. Parasitol.* 139, 336–346.
255. Van Wyk, J.; Malan, F.; Randles, J. 1997. How long before resistance makes it impossible to control some field strains of *Haemonchus contortus* in South Africa with any of the anthelmintics. *Vet. Parasitol.* 70, 111–122.
256. Van Wyk, J.; Schalkwyk, P., 1990. A novel approach to the control of anthelmintic-resistant *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Parasitol.* 35, 61–69.
257. Veríssimo, C.J.; Niciura, S.C.; Alberti, A.L.; Rodrigues, C.F.; Barbosa, C.M.; Chiebao, D.P.; Cardoso, D.; da Silva, G.S.; Pereira, J.R.; Margatho, L.F.; da Costa, R.L.; Nardon, R.F.; Ueno, T.E.; Curci, V.C.; Molento, M.B. 2012. Multidrug and

- multispecies resistance in sheep flocks from Sao Paulo state, Brazil. *Vet. Parasitol.* 187, 209-216.
258. Von Samson-Himmelstjerna, G.; Walsh, T.K.; Donnan, A.A.; Carriere, S.; Jackson, F.; Skuce, P.J.; Rohn, K.; Wolstenholme, A.J. 2009. Molecular detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using real time PCR and pyrosequencing. *Parasitology* 136, 349-358.
259. Waller, P.J. 1997. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 72, 391-405.
260. Waller, P.J. 2006. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 277-289.
261. Waller, P.J.; Thomas, R.J. 1975. Field studies on inhibition of *Haemonchus contortus* in sheep. *Parasitology* 71, 285-291.
262. Wang, T.; Van Wyk, J.; Morrison, A.; Morgan, E. 2014. Moisture requirements for the migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae out of faeces. *Veterinary parasitology*. 204.
263. Williamson, S.M.; Storey, B.; Howell, S.; Harper, K.M.; Kaplan, R.M.; Wolstenholme, A.J. 2011. Candidate anthelmintic resistance-associated gene expression and sequence polymorphisms in a triple resistant field isolate of *Haemonchus contortus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 180, 99-105.

264. Wood, I.B.; Amaral, N.K.; Bairden, K.; Duncan, J.L.; Kassai, T.; Malone Jr. J.B.; Pankavich, J.A.; Reinecke, R.K.; Slocombe, O.; Taylor, S.M. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.* 58, 181– 213.
265. Woolaston, R.R.; Baker, R.L. 1996. Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites. *Int. J. Parasitol.* 26, 845-855.
266. Zvinorova, P.I.; Halimani, T.E.; Muchadeyi, F.C.; Matika, O.; Riggio, V. y Dzama K. 2016. Breeding for resistance to gastrointestinal nematodes the potential in low input/output small ruminant production systems. *Veterinary Parasitology* 30 (225): 19–28.



“En general, las verdaderas amistades no se explicitan, se dan y se van como cultivando. A tal punto que la otra persona ya entró en mi vida como preocupación, como buen deseo, como sana curiosidad de saber cómo le va a él, a su familia, a sus hijos...”

Papa Francisco

