



**UADY**

POSGRADO  
INSTITUCIONAL  
EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y  
MANEJO DE RECURSOS  
NATURALES TROPICALES

**DETERMINACIÓN *IN VIVO* DE LA RESISTENCIA DE  
*Ancylostoma caninum* A LA IVERMECTINA  
EN PERROS DE MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO  
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

POR

**Médico Veterinario Zootecnista  
Isaura Jacqueline Ravell Sánchez**

**Director:  
Dr. Manuel Emilio Bolio González**



POSGRADO INSTITUCIONAL  
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO  
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Mérida, Yuc., México, Noviembre 2017



**UADY**

POSGRADO  
INSTITUCIONAL  
EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y  
MANEJO DE RECURSOS  
NATURALES TROPICALES

**POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
MANEJO DE RECURSOS NATURALES TROPICALES**

**ALUMNA: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
ISAURA JACQUELINE RAVELL SÁNCHEZ**

**SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO**

**DR. ARMANDO AGUILAR CABALLERO  
CCBA-UADY**

\_\_\_\_\_

**DR. EDUARDO GUTIÉRREZ BLANCO  
CCBA-UADY**

\_\_\_\_\_

**DR. ANTONIO ORTEGA PACHECO  
CCBA-UADY**

\_\_\_\_\_

**DR. FELIPE TORRES ACOSTA  
CCBA-UADY**

\_\_\_\_\_

**DR. JOSÉ ALBERTO ROSADO AGUILAR  
CCBA-UADY**

\_\_\_\_\_

**MÉRIDA, YUCATÁN, NOVIEMBRE DEL 2017**

## **DECLARATORIA**

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

---

M.V.Z. ISAURA JACQUELINE RAVELL SÁNCHEZ

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres (María E. Sánchez y Jesús L. Ravell) y hermanas por su apoyo incondicional durante mis estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias Agropecuarias.

Al Posgrado de Investigación de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) por haberme brindado la oportunidad de estudiar la Maestría en Ciencias Agropecuarias.

A mi asesor el Dr. Manuel Emilio Bolio González, así como también a mis tutores el Dr. Eduardo Gutiérrez Blanco y el Dr. Armando J. Aguilar Caballero, por su paciencia y apoyo durante mi formación académica.

A la Química Iris Trinidad Martínez y la M.V.Z. Karen Arjona por su amistad y por el soporte técnico brindado en el Laboratorio de Parasitología para la realización de este estudio.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar *in vivo* la resistencia de *Ancylostoma caninum* a la Ivermectina en perros. La resistencia del fármaco se evaluó con base en la reducción del número de huevos por gramo de heces (hpg) y con el intervalo de confianza al 95%. Se utilizaron 20 perros mayores a un año de edad y positivos a infecciones con *A. caninum*. Se formaron 2 grupos de 10 animales cada uno, los cuales recibieron los siguientes tratamientos: grupo 1, fungió como control y no recibió tratamiento alguno; y grupo 2, recibió 0.2 mg/kg de Ivermectina vía subcutánea (SC). En los días 0, 3, 6, 9 y 14 postratamiento se tomaron muestras de heces que fueron procesadas mediante las técnicas de flotación centrifugada y McMaster. El grupo 1 presentó promedios de huevos por gramo de heces de  $830 \pm 165.32$ ,  $855 \pm 164.06$ ,  $930 \pm 154.91$ ,  $840 \pm 146.81$  y  $785 \pm 149.16$  a los días 0, 3, 6, 9 y 14 postratamiento, mientras que el grupo 2 presentó promedios de  $855 \pm 130.06$ ,  $50 \pm 57.73$ ,  $40 \pm 45.94$ ,  $20 \pm 34.96$  y  $10 \pm 21.08$  con porcentajes de reducción del 94.15%, 95.69%, 97.61% y 98.72% respectivamente. Los límites inferiores del intervalo de confianza al 95% fueron menores a 90 en cada uno de los días post tratamiento. Se concluye que el tratamiento con Ivermectina produce una buena reducción de hpg de *A. caninum*, sin embargo, al ser los límites inferiores a 90 el resultado se considera sospechoso de resistencia.

**Palabras Clave:** *Ancylostoma caninum*, Resistencia, Ivermectina, Perro, Yucatán-México.

## SUMMARY

The aim of this study was to determine the *in vivo* resistance of *Ancylostoma caninum* to Ivermectin in Dogs. The resistance of the drug was evaluated based on the reduction of the number of eggs per gram of feces (EPG) and with the 95% confidence interval. Twenty dogs older than one year of age and positive for *A. caninum* infections were included in this study. Two groups of 10 animals were formed, which received the following treatments: Group 1, was used as a control group and did not receive treatment; Group 2, received 0.2 mg/kg Ivermectin subcutaneously (SC). On days 0, 3, 6, 9 and 14 post-treatment faecal samples were collected and processed using the centrifugal flotation and McMaster techniques. Group 1 showed averages EPG of  $830 \pm 165.32$ ,  $855 \pm 164.06$ ,  $930 \pm 154.91$ ,  $840 \pm 146.81$  and  $785 \pm 149.16$  at days 0, 3, 6, 9 and 14 post-treatment, whereas Group 2 showed averages of  $855 \pm 130.06$ ,  $50 \pm 57.73$ ,  $40 \pm 45.94$ ,  $20 \pm 34.96$  and  $10 \pm 21.08$  with reduction percentages of 94.15%, 95.69%, 97.61% and 98.72% respectively. The lower limits of the 95% confidence interval were less than 90 on each of the post-treatment days. It is concluded that treatment with Ivermectin produces a good reduction EPG of *A. caninum*, however, being the limits of confidence lower than 90 the result is considered suspected of resistance.

**Key words:** *Ancylostoma caninum*, Resistance, Ivermectin, Dog, Yucatan-Mexico.

## INDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
2.1. Antecedentes históricos.....	3
2.2. Resistencia antihelmíntica.....	3
2.3. Métodos de evaluación de resistencia antihelmíntica.....	5
2.4. Ancilostomiasis.....	6
2.4.1. Epidemiología.....	7
2.4.2. Clasificación taxonómica.....	8
2.4.3. Morfología.....	8
2.4.4. Ciclo biológico.....	10
2.4.5. Transmisión.....	11
2.4.5.1. Transmisión placentaria.....	11
2.4.5.2. Transmisión a través del calostro.....	12
2.4.6. Diagnóstico.....	12
2.5. Lactonas Macroclínicas.....	12
2.5.1. Ivermectina.....	14
2.5.2. Mecanismo de acción.....	15
2.5.3. Farmacocinética.....	16
2.5.4. Espectro de actividad.....	16

2.5.5. Toxicidad.....	17
<b>III. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>18</b>
3.1. Objetivos específicos.....	18
<b>IV. HIPÓTESIS.....</b>	<b>18</b>
<b>V. REFERENCIAS.....</b>	<b>19</b>
<b>ARTÍCULO (ELABORADO DE ACUERDO AL FORMATO DE LA REVISTA ECOSISTEMAS Y RECURSOS AGROPECUARIOS).....</b>	<b>26</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación taxonómica de <i>A. caninum</i> .....	8
Figura 2. Macho y hembra de <i>A. caninum</i> .....	9
Figura 3. Ciclo biológico de <i>A. caninum</i> .....	10
Figura 4. Origen y clasificación de las Lactonas Macroclícas.....	13
Figura 5. Estructura química de la Ivermectina.....	14
Figura 6. Mecanismo de acción de la Ivermectina.....	15

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Análisis coprológico del promedio de huevos por gramo de heces (hpg) del grupo control y grupo tratado con Ivermectina con sus porcentajes de reducción e intervalo de confianza al 95%.....	31
--	----



## I. INTRODUCCIÓN

Los helmintos son un grupo diverso de gusanos parásitos, que abarcan nematodos, cestodos y trematodos, y constituyen un problema de salud importante para los seres humanos y animales en muchas partes del mundo. Aunque el impacto de sus enfermedades podría ser reducido por los hábitos de higiene y el control eficiente a través de un manejo adecuado y el uso estratégico, y mínimo de antiparasitarios en los animales domésticos, tales métodos no son suficientes para erradicar estos parásitos. En ausencia de vacunas, el control de estos parásitos depende de la quimioterapia para aliviar los síntomas y reducir la transmisión. Sin embargo, en la práctica veterinaria se ha instaurado la administración intensiva de antiparasitarios como una rutina que se realiza de forma descontrolada. Este hecho constituye la principal causa del aumento de la resistencia antihelmíntica de los parásitos. Actualmente la prevalencia de la resistencia a antihelmínticos de amplio espectro ha aumentado dramáticamente y ha pasado a provocar una grave crisis en muchos países. Se considera que la resistencia se ha establecido cuando un fármaco previamente eficaz deja de matar a la población parasitaria expuesta a las dosis terapéuticamente recomendadas (Fleming *et al.*, 2006; Jabbar *et al.*, 2006; Sievers y Alocilla, 2007; Fredrick, 2010; Lalchhandama, 2010; Bowman, 2012; Shalaby, 2013; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

En la actualidad, los estudios sobre la resistencia antihelmíntica en perros no son abundantes como la encontrada en otras especies animales como los bovinos, ovinos y caprinos. Sin embargo, se han realizado estudios que demuestran la resistencia antihelmíntica de algunos parásitos a determinados fármacos. Tal es el caso de la *Dirofilaria immitis* que se ha reportado resistente a las lactonas macrocíclicas (Geary *et al.*, 2011, Bourguinat *et al.*, 2015; Wolstenholme *et al.*, 2015) y *Ancylostoma caninum* al Pirantel (Kopp *et al.*, 2007).

La ancilostomiasis es una infección ocasionada por la presencia y acción de larvas y adultos de *A. caninum* en el intestino delgado y otros tejidos de los caninos. Su importancia radica en su capacidad para provocar anemia y hemorragias, al ser un parásito hematófago que consume aproximadamente 0.1 ml de sangre al día; y por la zoonosis que ocasiona en humanos, denominada *Larva Migrans Cutánea*. Por otro lado, desde que la Ivermectina fue obtenida en 1979, se ha convertido en uno de los antiparasitarios más utilizados en los animales de compañía, debido a su amplio espectro contra numerosos parásitos, especialmente nematodos y artrópodos (Díaz *et al.*, 2000; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2001; Urquhart *et al.*, 2001; Quiroz, 2003; Bowman, 2009; Alfaro, 2011; Dunn *et al.*, 2011; Zajac y Conboy, 2012).

Estudios de Ivermectina en combinación con el Pirantel han registrado una eficacia del 98.5% y 99.6% para *A. caninum* en perros (Clark *et al.*, 1992; Nolan, 1992). Así mismo, Gómez-Uitzil *et al.*, (1997) encontraron en Mérida, Yucatán que la Ivermectina a razón de 0.2 mg/kg de peso vivo aplicada en perros presentó una eficacia del 99% y 100%, a los 3 y 5 días postratamiento. Estos estudios demuestran la buena eficacia de la Ivermectina para el control de *A. caninum* en perros; sin embargo, recientemente se han hecho estudios que empiezan a reportar la existencia de resistencia a este fármaco (Ibarra-Velarde *et al.*, 2015; Jesus *et al.*, 2015) debido a su constante aplicación en los perros, lo que podría estar provocando una selección de poblaciones de nematodos resistentes.

Ante esto surge la siguiente pregunta de investigación: ¿El uso constante de la Ivermectina para el control de nematodos gastrointestinales en los perros de Yucatán, México ha seleccionado poblaciones de parásitos resistentes al fármaco? Ante las consecuencias que esto podría ocasionar no sólo a la salud animal sino también a la pública, el objetivo del presente estudio es determinar *in vivo* la resistencia de *A. caninum* a la Ivermectina en perros de Mérida, Yucatán, México.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes históricos**

En todo el mundo, las infecciones por nematodos restringen el bienestar y la salud de los animales. El control de estos parásitos depende en gran medida de la administración de antihelmínticos, debido a la facilidad de implementación y bajo costo de la terapia, en comparación con otros métodos de control. Sin embargo, la quimioterapia está cargada con problemas tales como el desarrollo de la resistencia a antihelmínticos. Muchos de los fármacos antihelmínticos actualmente disponibles han estado en uso durante bastante tiempo y los informes que muestran el desarrollo de la resistencia contra ellos están aumentando (De Graef *et al.*, 2013; Othman-Dyary, 2016).

Se encuentran diversos factores que favorecen la resistencia a antihelmínticos; los tratamientos frecuentes, las subdosificaciones, el tamaño de la población de parásitos y las rotaciones inadecuadas de los compuestos químicos son los factores que comúnmente se asocian con el origen de resistencia a un fármaco (Márquez-Lara, 2007).

### **2.2. Resistencia antihelmíntica**

La resistencia antihelmíntica (RA) se define como la capacidad heredable de los parásitos de sobrevivir a tratamientos con drogas antihelmínticas que a dosis terapéuticas normalmente causan la inhibición del crecimiento o muerte del parásito. Al comienzo del desarrollo de la resistencia, solo una pequeña parte de la población parasitaria posee tolerancia genética al tratamiento y ante reiteradas desparasitaciones con una misma droga, la población mayoritariamente susceptible muere y sobreviven de esta forma los individuos resistentes que, luego de los repetidos tratamientos aumentan en número y transmiten esta capacidad de generación en generación, y así se desarrolla el fenómeno de resistencia. Ello se produce porque después de cada tratamiento sobrevive un pequeño número de parásitos que son resistentes al fármaco utilizado, y son los únicos que logran reproducirse y contaminar con sus huevos. Con la continua selección de los

individuos resistentes que se produce por el uso repetido de los antihelmínticos, aumenta la frecuencia de los genes de la resistencia en una población, hasta producir el reemplazo de la población sensible por una población resistente al fármaco con el consiguiente fracaso del tratamiento antihelmíntico. El establecimiento de una población resistente a un antihelmíntico es un proceso de carácter irreversible (Cristel y Suárez, 2006; De Graef, 2013; Demessie *et al.*, 2016).

Hasta la fecha hay pocos casos probados de resistencia a antihelmínticos en perros. En la actualidad la manera de detectar la resistencia a antihelmínticos en perros es a través de la prueba de reducción de huevos fecales (ESCCAP 2010). Sin embargo, recientemente están siendo reportados casos de resistencia de la *Dirofilaria immitis* a las lactonas macrocíclicas (Geary *et al.*, 2011, Bourguinat *et al.*, 2015; Wolstenholme *et al.*, 2015) y *A. caninum* al Pirantel (Kopp *et al.*, 2007).

Clark *et al.*, (1992) y Nolan (1992) realizaron estudios de Ivermectina en combinación con el Pirantel mostrando una eficacia del 98.5% y 99.6% a dosis de 6µg/kg contra *A. caninum* en Philadelphia, EU; Turra-Pimpão *et al.*, (2005) aplicaron por vía subcutánea tres dosis de Ivermectina (200µg/kg) a intervalos de 7 días a 6 perros infectados con parásitos internos incluyendo *A. caninum*, mensualmente se les realizó examen coprológicos por cinco meses observando una reducción del 100% de los parásitos mostrando la eficacia de la Ivermectina, sin embargo, dos de los 6 perros volvieron a presentar endoparasitosis 3 meses después del tratamiento, este estudio se realizó en Paraná, Brasil. Khayatnouri y Garedaghi (2012) utilizaron una formulación pour-on de Ivermectina a dosis de 0.5mg/kg en perros infectados con *A. caninum* en Irán, el porcentaje de reducción de HPG a los días 1, 7, 21 y 28 fue de 21.19%, 68.21%, 91.24% y 98.61% respectivamente; indicando la efectividad de la Ivermectina. Jesus *et al.*, (2015) realizó un estudio en Paraná, Argentina en perros menores de un año, de ambos géneros y diferentes razas, estos recibieron 3mg/kg de Ivermectina vía oral, mostrando una eficacia del 85.7% y 95.2% a los días 2 y 10 postratamiento.

Panigrahi *et al.*, (2014) compararon en India la Ivermectina en dosis de 0.5mg/kg/pv en dos rutas diferentes de administración (subcutánea y oral), los resultados obtenidos en el porcentaje de reducción de HPG de la vía subcutánea fue del 92.10% y 98.02% al día 7 y 15 postratamiento respectivamente y del 91.12% y 96.05% para la vía oral, demostrando de esta manera la eficacia de la Ivermectina a los 15 días postratamiento contra *A. caninum*. Gómez-Uitzil *et al.*, (1997) reportaron en Mérida, Yucatán que la Ivermectina a dosis de 0.2mg/kg aplicada en perros criollos callejeros en edad adulta por vía subcutánea presentó una eficacia del 99% y 100%, a los días 3 y 5 postratamiento.

Todos estos estudios demuestran que la Ivermectina sigue siendo eficaz contra el parásito *A. caninum* en diferentes concentraciones y vías de administración. Sin embargo, Ibarra-Velarde *et al.*, (2015) compararon en México dos formulaciones pour-on de Ivermectina al 0.2% y 0.5% respectivamente a dosis de 1ml/10kg/pv en perros callejeros de entre 5 a 12 meses de edad y con pesos entre 4-15 kg, los resultados obtenidos en la reducción de HPG de *A. caninum* fueron del 50.7%, 47.1%, 42.3% y 50.4% a los días 7, 14, 21 y 28 postratamiento para la formulación al 0.2%; mientras que para la formulación al 0.5% se obtuvo una reducción del 100%, 87.5%, 83.3% y 79% respectivamente.

### **2.3. Métodos de evaluación de resistencia antihelmíntica**

Para realizar el diagnóstico de resistencia antihelmíntica se emplean métodos *in vivo* e *in vitro*. Como métodos *in vivo* se utilizan el test de reducción en el recuento de huevos por gramo de materia fecal (FECRT, Faecal Egg Count Reduction Test) o bien las pruebas de dosificación y necropsia postratamiento (CAT, Controlled Anthelmintic Test). Este último método es por lo general aplicado cuando existe un interés especial para confirmar resistencia. El costo de los animales involucrados en las necropsias, así como el recuento e identificación de los parásitos, desalientan esta metodología. La prueba de FECRT implica calcular la reducción media en el conteo de huevos fecales en un intervalo definido



después del tratamiento de una población animal; esta prueba se encuentra ampliamente difundida y es de uso común en todo el mundo, debido a su sencillez y a que se puede aplicar a cualquier tipo de fármaco para medir su efectividad (Cutullé *et al.*, 1999; González-Garduño *et al.*, 2014; Qadri *et al.*, 2015).

Los métodos *in vitro* son más sensibles, pero requieren de personal con experiencia y material biológico, se basan en la acción de diferentes concentraciones de antihelmínticos en el embrión, desarrollo y motilidad de los parásitos. Estos incluyen el ensayo de incubación de huevos (EHA, Egg Hatch Assay) y el ensayo de desarrollo de larvas (LDA, Larval Development Assay). La prueba EHA se utiliza para diferenciar entre cepas resistentes y susceptibles de nematodos gastrointestinales para los benzimidazoles y levamisoles que se utilizan para calcular el 50% de la dosis letal del fármaco en huevos de nematodos recién recolectados. La prueba de LDA se basa en el cultivo de un número conocido de huevos de nematodos gastrointestinales en presencia de diferentes antihelmínticos. Esta prueba es relativamente fácil de realizar, más sensible que el FECRT y permite la identificación de larvas de parásitos en el nivel de género. La LDA es la única que permite la detección de resistencia contra todos los fármacos independientemente de su modo de acción (Coles *et al.*, 2006; Holm *et al.*, 2014; Demessie *et al.*, 2016).

#### **2.4. Ancilostomiasis**

La Ancilostomiasis es una infección ocasionada por la presencia y acción de larvas y adultos de *A. caninum* en el intestino delgado y otros tejidos de los caninos. Su importancia radica en su capacidad para provocar anemia y hemorragias, al ser un parásito hematófago que consume aproximadamente 0.1 ml de sangre al día; y por la zoonosis que ocasiona en humanos, denominada *Larva Migrans Cutánea*, que tiene distribución mundial y es endémica en países tropicales. La transmisión ocurre cuando se tiene contacto con tierra contaminada con heces de perros (Urquhart *et al.*, 2001; Quiroz, 2003; Bowman, 2009; Alfaro, 2011; Zajac y Conboy, 2012).

### 2.4.1. Epidemiología

En áreas endémicas, la enfermedad es más común en perros menores de un año. En animales viejos, el desarrollo gradual de la resistencia con la edad hace que la enfermedad sea menos probable, particularmente en los perros criados en áreas endémicas cuya resistencia se refuerza con la inmunidad adquirida (Urquhart *et al.*, 2001).

La epidemiología está relacionada con las dos vías principales de infección, la lactogénica en los cachorros lactantes y la percutánea u oral desde el medio ambiente. La contaminación del ambiente es más frecuente cuando los perros hacen ejercicios en lugares con hierba o tierra que retienen la humedad y también protege a las larvas de la luz solar. En esas superficies las larvas pueden sobrevivir durante algunas semanas; por el contrario, las superficies secas, particularmente si están expuestas al sol, son letales para las larvas en un día. Por lo tanto, si las perreras están húmedas o tienen el suelo poroso, pueden dar lugar a una infección masiva (Urquhart *et al.*, 2001).

En estudios realizados, se ha encontrado en Argentina que *A. caninum* constituye uno de los parásitos que más se encuentra en los perros, tanto en los domiciliados como en los peri domiciliados, observándose en un 69.8% (Taranto *et al.*, 2000); fue el segundo más abundante con un 28.21% en Bolivia (Loza *et al.*, 2006); mientras que en Brasil se encontró en un 46% (Castillo *et al.*, 2012). En México, la prevalencia encontrada de *A. caninum* fue de un 55.2% en Querétaro, la observada en Veracruz fue de 32.89% (Fernández y Cantó, 2002; Burgos, 2010), y recientemente Rodríguez-Vivas *et al.*, (2011), reportaron que el 73.8% de los perros estudiados en una comunidad rural de Yucatán, México, se encontraban infectados con *A. caninum*. Estos hallazgos ponen de manifiesto la importancia de este nematodo en la salud de los perros y su importancia como zoonosis en la transmisión de *Larva Migrans Cutánea*, al ser el canino un habitante frecuente en los hogares y en las calles.

## 2.4.2. Clasificación taxonómica.

**Figura 1.** Clasificación taxonómica de *A. caninum* (Botero, 1998).

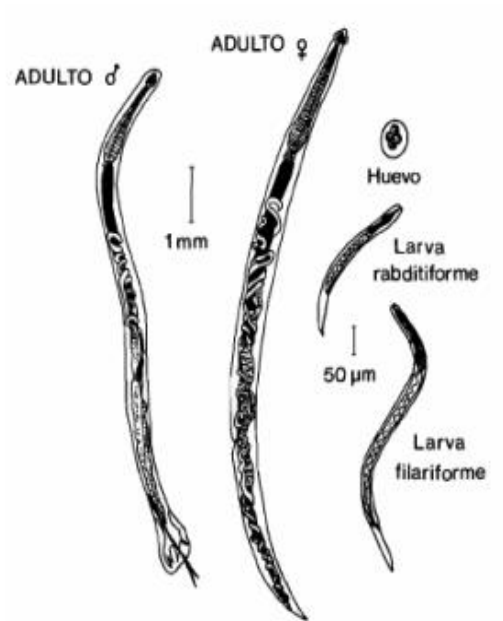
Reino	<i>Animalia</i>
Rama	<i>Helminta</i>
Sub-rama	<i>Nemathelminta</i>
Clase	<i>Nematoda</i>
Subclase	<i>Adenophorea</i>
Orden	<i>Strongylida</i>
Suborden	<i>Strongylina</i>
Superfamilia	<i>Strongyloidea</i>
Familia	<i>Ancylostomatidae</i>
Subfamilia	<i>Ancylostomatinae</i>
Género	<i>Ancylostoma</i>
Especie	<i>Caninum</i>

### Familia Ancylostomidae

La familia *Ancylostomidae*, cuyos miembros son denominados comúnmente gusanos ganchudos por su característica forma de gancho en su extremo anterior; son responsables de una gran morbilidad y mortalidad en los animales debido a sus hábitos hematófagos en el intestino (Urquhart *et al.*, 2001).

### 2.4.3. Morfología

Macroscópicamente se les identifica fácilmente por su característica forma de gancho y por su tamaño (1,0-2,0 cm), siendo más pequeños en comparación con los nematodos ascáridos que también se localizan en el intestino delgado. Microscópicamente presenta una cápsula bucal grande y dientes en su margen, la especie más importante es *A. caninum* (Urquhart *et al.*, 2001; Iturbe, 2011).



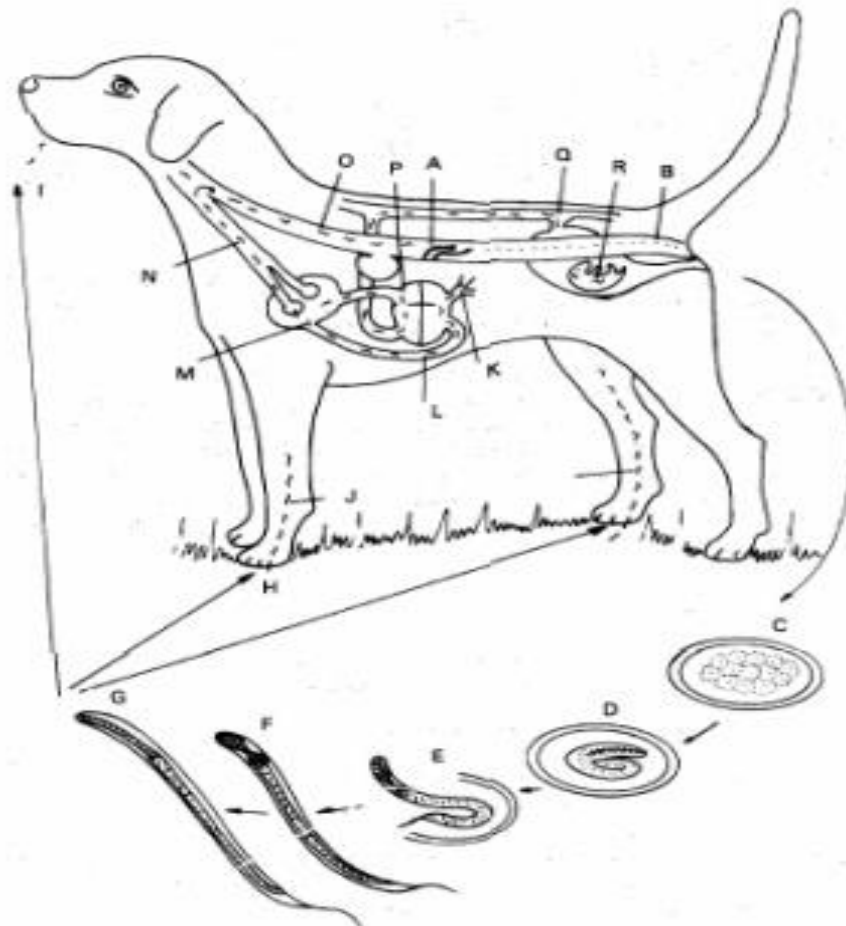
**Figura 2.** Macho y hembra de *A. caninum* (Alfaro, 2011).

### ***Ancylostoma caninum***

Son gusanos cilíndricos que encuentran en el intestino delgado de perros, coyotes, zorros, lobos y otros carnívoros silvestres. Los vermes en estado fresco son de color grisáceo o gris rojizo; la cápsula bucal es subglobular y posee tres pares de dientes ventrales sobre su borde y un par de dientes dorsales de forma triangular o lancetas en el fondo. El margen anterior de los dientes generalmente es cóncavo y algunas veces recto, y el esófago es muscular en forma de huso. Los machos miden 10 a 13 mm, presentan en el extremo posterior una dilatación en forma de campana conocida como bolsa copuladora, que es ancha y traslúcida que presenta espículas para fijarse en el momento de la copulación; las hembras de 13 a 20.5 mm de largo con una cola relativamente ancha. Los huevos miden de 55 a 72 µm de longitud por 34 a 45 µm de anchura, la hembra fértil puede poner entre 10,000 y 20,000 huevos al día (Alfaro, 2011; Iturbe, 2011).

#### 2.4.4. Ciclo biológico

El suelo que más lo favorece es el arenoso, con bastante humedad y oxígeno; la temperatura óptima es entre 23-30 °C. El ciclo es directo y en condiciones óptimas los huevos pueden eclosionar y desarrollarse hasta L3 en tan solo cinco días. La primera larva se desarrolla en un día, se alimenta de bacterias y muda para llegar al segundo estado larvario. Se alimenta y muda para dar lugar al tercer estado larvario, conserva la muda de la segunda larva ya que le sirve de protección; esto sucede en 22 días a 15 °C o en dos días a 20 °C (Alfaro, 2011; Iturbe, 2011).



**Figura 3.** Ciclo biológico de *A. caninum* (Alfaro, 2011).

### **2.4.5. Transmisión**

La infección del animal se realiza por penetración a través de la piel o por ingestión. En la infección percutánea, las larvas migran por la corriente sanguínea hasta al corazón y los pulmones, en los bronquios y la tráquea mudan a L4, y posteriormente pasan al intestino delgado donde tiene lugar la muda final, esta migración tarda de 2 a 7 días dos días. Si la infección es por ingestión, las larvas pueden penetrar por la mucosa bucal y llevar a cabo la migración a los pulmones descrita anteriormente, o pasar directamente al intestino y desarrollar la enfermedad. Independientemente de la vía, el periodo de prepatencia es de 14-21 días; las hembras son muy prolíficas y ponen muchos huevos, por lo que un perro puede eliminar millones de ellos diariamente durante varias semanas (Urquhart *et al.*, 2001; Alfaro, 2011; Iturbe, 2011).

Un aspecto muy importante de la infección por *A. caninum* es que en perras receptivas, una proporción de L<sub>3</sub> que alcanzan los pulmones migran a los músculos esqueléticos donde permanecen inhibidas hasta que la perra queda gestante. Entonces se reactivan y las L<sub>3</sub> pasan a la leche de la perra durante unas tres semanas después del parto. La transmisión lactogénica es responsable de anemia grave en cachorros en su segunda o tercera semana de vida; una sola infección en la perra produce la transmisión lactogénica durante al menos tres lactaciones consecutivas. Las L<sub>3</sub> inhibidas en los músculos, tanto en perras como perros, pueden reiniciar la migración meses o años más tarde para madurar en el intestino del hospedador (Urquhart *et al.*, 2001; Iturbe, 2011).

#### **2.4.5.1. Transmisión placentaria**

Cuando la perra gestante se infesta, las larvas pasan por vía transplacentaria a los fetos. Las larvas no mudarán hasta que el cachorro nace y los huevos salen a los 10 o 12 días de nacidos (Alfaro, 2011; Iturbide, 2011).

#### **2.4.5.2. Transmisión a través del calostro**

Las larvas de *A. caninum* infestan a los cachorros luego que estos ingieren el calostro. Algunas larvas que llegan a los pulmones no prosiguen su camino hacia el intestino, sino que migran hacia los músculos donde permanecen aletargados durante más de 240 días. En este aspecto cobran interés especial las perras porque durante la gestación las larvas somáticas se reactivan y se eliminan por la leche, infectando a los cachorros durante las primeras 3 semanas de lactación, aunque la primera semana puerperal es realmente la más importante. Las larvas permanecen acantonadas en los músculos durante meses y pueden transmitirse con el calostro y la leche al menos en tres lactaciones seguidas, sin reinfección de la madre (Alfaro, 2011; Iturbide, 2011).

#### **2.4.6. Diagnóstico**

Depende de la historia y los signos clínicos complementado con análisis hematológicos y coprológicos; también hay que tomar en cuenta el valor del hematocrito y grado de anemia. Los recuentos muy altos de huevos en heces son valiosos para confirmar el diagnóstico, pero debe tenerse en cuenta que los cachorros que se encuentran mamando presentan signos clínicos antes de que los huevos sean detectados en las heces. Para la determinación de *A. caninum* y *Uncinaria* se puede realizar un cultivo de larvas así como la identificación microscópica (Urquhart *et al.*, 2001; Alfaro, 2011; Iturbe, 2011).

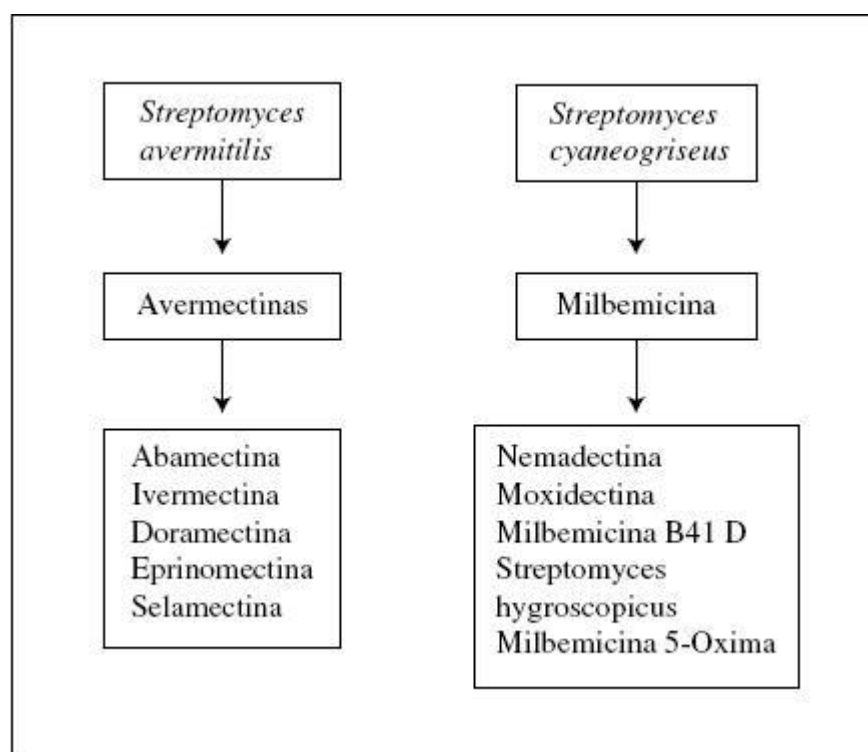
### **2.5. Lactonas Macrocíclicas**

Las lactonas macrocíclicas provienen de la bacteria gram (+) *Streptomyces avermiltis* (Familia: *Streptomycetaceae*, Clase: *Actinobacteria*). Esta bacteria fue aislada por primera vez de una muestra de suelo en Japón en 1944 (Clark *et al.*, 1994; Chhaiya *et al.*, 2012).

Se les conoce como macrocíclicas por las características de su estructura química (una glicona y un azúcar) que permite relacionarlas con los macrólidos. La

estructura química de estas sales corresponde a una lactona macrocíclica de 16 miembros (sin efecto bacteriano), unida a un grupo benzofurano y a un anillo espiroquetal; por lo que son moléculas de gran tamaño con peso molecular entre 600 kDa (Milbemicinas) y 800 kDa (Avermectinas) (Sumano y Ocampo, 2006; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

Dependiendo del actinomiceto de cuya fermentación provenga existen dos familias: 1) las Avermectinas (*S. avermitilis*) y b) las Milbemicinas (*S. cyaneogriseus*). Los compuestos de ambas familias poseen actividad sobre endo y ectoparásitos recibiendo por ello, la denominación de fármacos endectocidas (Lifschitz *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008).



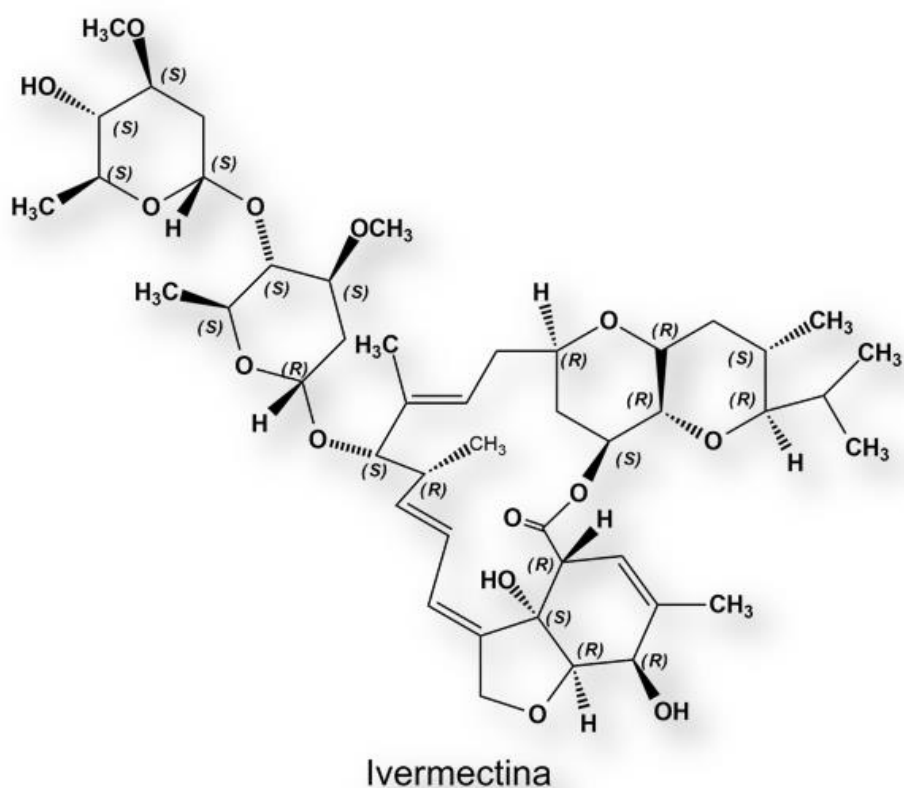
**Figura 4.** Origen y clasificación de las Lactonas Macrocíclicas (Lifschitz *et al.*, 2002).



### 2.5.1. Ivermectina

La Ivermectina es el resultado de la fermentación de la bacteria *Streptomyces avermilitis*, obtenido por primera vez en el año 1979. Es un fármaco muy liposoluble y poco hidrosoluble, por lo que se puede aplicar por diferentes vías; siendo las más recomendadas la subcutánea, intramuscular y tópica (Lifschitz *et al.*, 2002; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2010).

La Ivermectina es un antiparasitario de amplio espectro utilizado universalmente en varias especies al ser efectiva, económica, práctica y ofrecer varias alternativas para su aplicación, ya que puede administrarse por vía oral, subcutánea o tópica; por lo que es comúnmente usada (Paradis, 1998).

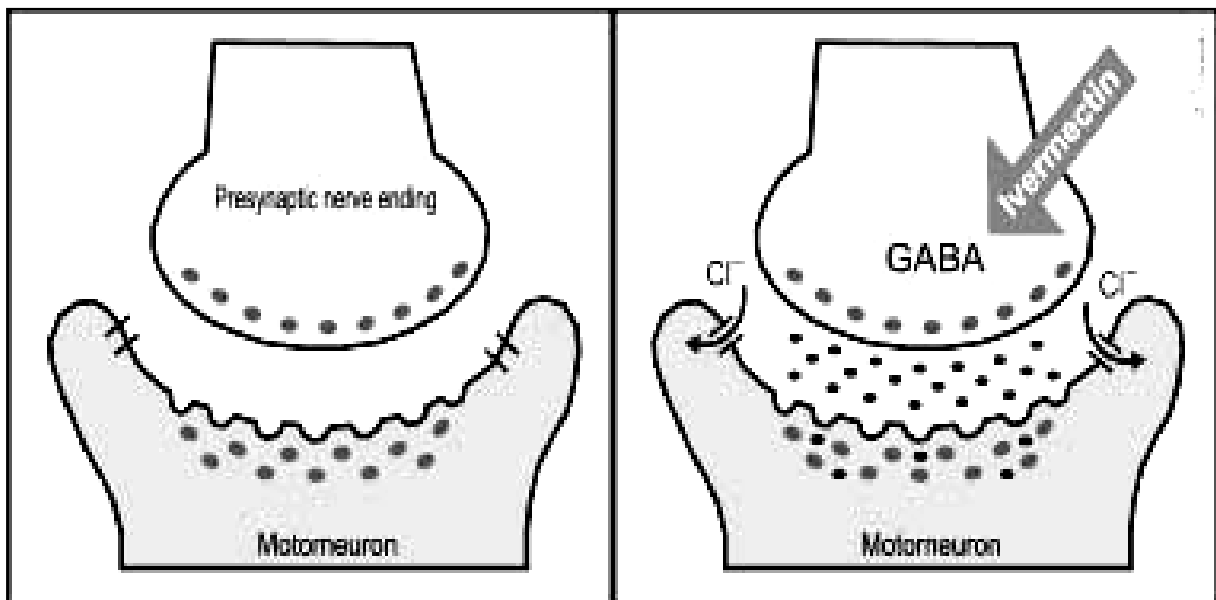


**Figura 5.** Estructura química de la Ivermectina (González-Canga *et al.*, 2009)

### 2.5.2. Mecanismo de acción

La Ivermectina es un producto de las Avermectinas cuyo mecanismo de acción es bloquear los mecanismos de neurotransmisión al fijar el ácido gamma amino-butírico (GABA), causando la inmovilidad del parásito. Esta característica se relaciona con la inocuidad del producto ya que, en mamíferos, sólo en el cerebro existen terminaciones nerviosas mediadas por el GABA; de esta forma, bajo condiciones normales, la Ivermectina no atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica. Lo anterior otorga un cierto margen de seguridad (Márquez-Lara, 2007; Aparicio-Medina *et al.*, 2011; Chhaiya *et al.*, 2012).

Originalmente se creía que estos fármacos aumentaban la liberación de ácido gamma amino-butírico (GABA), de las terminaciones nerviosas del parásito pero en la actualidad se sabe que también poseen cierta afinidad por los canales iónicos de las células nerviosas y musculares, sobre todo los de cloro; de igual manera aumentan la permeabilidad de la membrana y provocan alteraciones nerviosas de los parásitos, a menudo hiperpolarización celular que le ocasiona una parálisis flácida, la muerte y por último interfieren en la reproducción (Márquez-Lara, 2007; Aparicio-Medina *et al.*, 2011; Chhaiya *et al.*, 2012 ).



**Figura 6.** Mecanismo de acción de la Ivermectina (Chhaiya *et al.*, 2012)

### **2.5.3. Farmacocinética**

Su farmacocinética indica que puede utilizarse por vía parenteral, es altamente liposoluble; se absorbe totalmente en el sitio de aplicación, en el intestino alcanza niveles elevados en muy corto tiempo y sus máximos residuos se encuentran en grasas e hígado. Es de amplia distribución en los líquidos corporales y se mantiene por periodos prolongados; se concentra en gran cantidad en las mucosas y el contenido intestinal, la piel y el tejido pulmonar, siendo estas concentraciones significativamente mayores a las obtenidas en el plasma, lo que resulta relevante para su eficacia y persistencia antiparasitaria. Tiene una vida media terminal larga en la mayoría de las especies y es metabolizada en el hígado por vía oxidativa pudiendo sufrir circulación enterohepática, lo que contribuye a su prolongada permanencia en el organismo animal; la bilis es su vía de eliminación fundamental por lo que se detectan grandes cantidades en las heces, aunque también se excreta por la orina y la leche (Lifschitz *et al.*, 2002; Sumano y Ocampo, 2006; Aparicio-Medina *et al.*, 2011).

### **2.5.4. Espectro de actividad**

En caninos, las Avermectinas se utilizan para el tratamiento profiláctico contra *D. immitis*, a pesar de la excelente actividad de la Ivermectina contra diversos nematodos que afectan a los caninos, los efectos tóxicos producidos en algunas razas como los Collie, limitan su uso como antiparasitario de amplio espectro. Sin embargo, se ha descrito el uso de Ivermectina contra nematodos (*Ascaris*, *Trichurs*, *Ancylostoma*) en perros y gatos a dosis de 200-300 mcg/kg. Vía subcutánea u oral, cada 7-14 días (Paradis, 1998; Lifschitz *et al.*, 2002).

### 2.5.5. Toxicidad

Cuando la Ivermectina está presente en concentraciones suficientemente altas para cruzar la barrera hematoencefálica, puede causar signos neurológicos en los perros. La sobredosificación y la susceptibilidad en función de la raza son las dos causas de toxicidad en perros. En esta especie, los principales signos clínicos que se presentan en cuadros de intoxicación por Ivermectina son: ataxia, midriasis, alteración mental (estupor, coma), hipersalivación, vómito, ceguera, temblores y convulsiones (González-Canga *et al.*, 2009; Odunayo y Kerl, 2012).

No existe predisposición de género o edad. Sin embargo, los animales muy jóvenes pueden tener un mayor riesgo debido a que poseen barreras hematoencefálicas inmaduras. Los perros con una mutación en el gen de resistencia a múltiples fármacos (ABCB1, anteriormente MDR1) son especialmente sensibles a la Ivermectina y están predispuestos a una mayor sensibilidad a la Moxidectina, Loperamida y Milbemicina. Las razas comunes con esta mutación incluyen el Border collie, el Pastor australiano, el Whippet de pelo largo, el Windhound de seda, los collies y razas mezcladas asociadas (González-Canga *et al.*, 2009; Odunayo y Kerl, 2012).

Dosis orales de 10mg/kg puede dar lugar a midriasis, ataxia, temblores musculares y muerte en 12-24 horas en perros no susceptibles, mientras que en los susceptibles la administración de dosis orales de 0.1-2.5 mg/kg presentan signos de toxicidad como sialorrea, vómitos, temblores y ataxia (González-Canga *et al.*, 2009).

### **III. OBJETIVO GENERAL**

Determinar *in vivo* la resistencia de *A. caninum* a la Ivermectina en perros de Mérida, Yucatán, México.

#### **3.1. Objetivos Específicos**

Identificar la presencia de *A. caninum* en perros de Mérida, Yucatán, México.

Determinar la resistencia de *A. caninum* a la Ivermectina en perros de Mérida, Yucatán, México.

### **IV. HIPÓTESIS**

- La Ivermectina empleada en perros de Mérida, Yucatán, México produce resistencia sobre *A. caninum*.

## V. REFERENCIAS

Alfaro, A. M. L. (2011). Prevalencia de *Ancylostoma caninum* en *Canis lupus familiaris* en el área urbana y periurbana de la colonia Zacamil, del municipio de Mejicanos, San Salvador. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador.

Botero, M. D. (1988). Parasitosis humanas. 3era ed. Medellín, Colombia. Ediciones rojo. Pp. 105-115.

Bourguinat, C., Lee, A., Lizundia, R., Blagburn, B., Liotta, J., Kraus, M., Keller, K., Epe, C., Letoureau, L., Kleinman, C., Paterson, T., Gómez, E., Montoya, J., Smith, H., Bhan, A., Peregrine, A., Carmichael, J., Drake, J., Schenker, R., Kaminsky, R., Bowman, D., Geary, T., Prichard, R. (2015). Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: Failure of heartworm preventives and investigation of genetic markers for resistance. *Veterinary Parasitology*, 210:167-178.

Bowman, D. D. (2009). *Parasitology for veterinarians*. Ninth edition. SAUNDERS ELSEVIER. London.

Bowman, D. (2012). Heartworms, macrocyclic lactones and the specter of resistance to prevention in the United States. *Parasites & Vectors*, 5:138-148.

Burgos, B. C. B. (2010). Frecuencia de gastroenteritis por *Ancylostoma spp* e *Isospora spp* en perros remitidos a una clínica privada de Veracruz, Ver., durante el período Mayo 2007-Junio 2010. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana.

Castillo, C. J. C., Morales, M. A., Molina, L. E. A., Cepero, R. O., Gutiérrez, A. D. I., Fernández, P. J. Z. (2012). Prevalencia y factores que favorecen la presentación de *toxocara canis* y *ancylostoma caninum* en canes de compañía. *REDVET*. 13(6):1-15.

Chhaiya, S., Mehta, D., Kataria, B. (2012). Ivermectin: pharmacology and therapeutic applications. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 1(3):132-139.

Clarck, J. N., Daurio, C. P., Plue, R. E., Wallace, D. H., Longhofer, S. L. (1992). Efficacy of Ivermectin and Pyrantel pamoate combined in a chewable formulation against heartworm, hookworm, and ascarid infections in dogs. *Am J Vet Rest.* 53(4):517-520.

Clark, J. M.; Scott, J. G.; Campos, F.; Bloomquist, J. R. (1994). Resistance to avermectins: extent mechanisms and management implications. *The Annual Review of Entomology*, 40: 1-30.

Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., Von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136:167-185.

Cristel, S. L., Suárez, V. H. (2006). Resistencia Antihelmíntica: Evaluación de la prueba de reducción del conteo de huevos. *RIA*, 35(3):29-43.

Cutullé, C., Eddi, C., Caracostantogolo, J., Castaño, Z. R., Schapiro, J. (1999). Métodos *in vitro* para el diagnóstico de resistencia antihelmíntica. *Vet. Arg.* 16(157): 514-521.

De Graef, J., Claerebout, E., Geldof, P. (2013). Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 82:113-123.

Demessie, Y., Seyoum, Z., Getnet, K., Yitbarek, D. (2016). Anthelmintics Resistance Against Gastrointestinal Nematodes of Sheep: A review. *World Journal of Agricultural Sciences*, 12(4):245-253.

Díaz., C. A., Espuny, A., Escudero, E., Cárceles, C. M. (2000). Farmacología de los endectocidas: Aplicaciones terapéuticas. *AN. VET. (MURCIA)* 16: 15-40.

Dunn, S. T., Hedges, L., Sampson, K. E., Lai, Y., Mahabir, S., Balogh, L. Locuson, C. W. (2011). Pharmacokinetic interaction of the antiparasitic agents ivermectin and spinosad in dogs. *Drug, Metabolism and Disposition*. 39(5):789-795.

ESCCAP. (2010). *Worm Control in Dogs and Cats. Guideline 01 Second Edition*.

Fernández, C. F., Cantó, A. G. J. (2002). Frecuencia de helmintos en intestinos de perros sin dueño sacrificados en la Ciudad d Querétaro, Querétaro, México. *Vet. Méx.*, 33(3):247-253.

Fleming, S., Craig, T., Kaplan, R., Miller, J., Navarre, C., Rings, M. (2006). Anthelmintic Resistance of Gastrointestinal Parasites in Small Ruminants. *Journal Veterinary Intern Medicine*, 20:435-444.

Fredrick, C., (2010). Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1):524-528.

Geary, T., Bourguinat, C., Prichard, R. (2011). Evidence for Macrocyclic Lactone Anthelmintic Resistance in *Dirofilaria immitis*. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(4):186-192.

Gómez-Uitzil. J. G., Rodríguez-Vivas, R. I., Bolio-González. M. E. (1997). Determinación de la eficacia de la Doramectina e Ivermectina subcutánea sobre la eliminación de huevecillos y parásitos adultos de *Ancylostoma caninum*. *Universidad y Ciencia*. 13(25):31-35.

González-Canga, A., Fernández-Martínez, N., Sahagún-Prieto, A., García-Vieitez, J., Díez-Liéban, M., Tamame-Martín, P., Sierra-Vega, M. (2010). Seguridad de la Ivermectin: toxicidad y reacciones adversas en diversas especies de mamíferos. *Revista MVZ Córdoba*, 15(2):2129-2137.

González-Garduño, R., López-Arellano, M., Ojeda-Robertos, N., Liéban-Hernández, E., Mendoza-De Gives, P. (2014). Diagnóstico *in vitro* y en campo de



resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. Archivos de Medicina Veterinaria, 46:399-405.

Gutiérrez, H. A. (2008). Eficacia comparativa de la Ivermectina, Doramectina, Moxidectina y un grupo control no tratado frente al promedio de peso y al control parasitario en bovinos *Bos indicus* de levante de 12 a 16 meses en la zona de Montería, Córdoba. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín, Colombia.

Holm, S., Sorensen, C., Thamsburg, S., Enemark, H. (2014). Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. Parasite, 21(37):1-10.

Ibarra-Velarde, F., Vera-Montenegro, Y., Ambía-Medina, J., Sánchez-Peralta, K., Ochoa-Galván, P. (2015). Comparison of two formulations of ivermectin against gastrointestinal worms, fleas and lice in naturally infected stray dogs. Pharmacology & Pharmacy 6, 177-184.

Iturbe, M. H. (2011). Frecuencia de parásitos gastrointestinales en perros y gatos en el hospital veterinario de pequeñas especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana (HVPE-FMVZ-UV) en el año 2011. Veracruz.

Jabbar, A., Labal, Z., Kerboeu, D., Ghulam, M., Khan, M., Afaq, M. (2006). Anthelmintic resistance: The state of play revisited. Life Sciences, 79:2413-2431.

Jesus, A. P., Holsback, L., Selingardi, M. S., Lahm-Cardoso, M. J., Ribeiro-Cabral, L. D., Rodrigues-Santos, T. (2015). Efficacy of pyrantel pamoate and ivermectin for the treatment of canine nematodes. Ciências Agrárias Londrina 36(6):3731-3740.

Khayatnouri, M. H., Garedaghi, Y. (2012). Efficacy of ivermectin pour-on administration against natural *Ancylostoma caninum* infestation in native dogs of East-Azerbaijan Province, Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances 11(4):526-530.

Kopp, S. R., Kotze, C. A., McCarthy, S. J., Coleman, T. G. (2007). High-level pyrantel resistance in the hookworm *Ancylostoma caninum*. *Veterinary Parasitology*. ELSEVIER. 143(3-4):299-304.

Lalchhandama, K. (2010). Anthelmintic resistance: The song remains the same. *Science Vision*, 10(4):111-122.

Lifschitz A, G Virkel, F Imperiale, A Pis, C Lanusse. (2002). Fármacos endectocidas: avermectinas y milbemicinas. En: Botana LM, Landoni F, Matín-Jiménez T (eds). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España. Pp 545-558.

Loza, V. A., Gonzales, R. J. L., Marin, L. G. (2006). Estudio epidemiológico de *Toxocara* sp. y *Ancylostoma* sp. en canes y paseos públicos de los distritos I al V de Santa Cruz de la Sierra. *REDVET*. 7(09).

Márquez-Lara, D. (2007). Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control. *Corpoica*. Colombia. Pp. 156-157.

Nolan, T. J., Hawdon, J. M., Longhofer, S. L., Daurio, C. P., Schad, G. A. (1992). Efficacy of an Ivermectin/Pyrantel pamoate chewable formulation against the canine hookworms, *Uncinaria stenocephala* and *Ancylostoma caninum*. *Veterinary Parasitology*. 41(1-2):121-125.

Odunayo, A., Kerl, M. (2012). Ivermectin Toxicosis in Dogs. *Clinician`s brief*, 1:63-66.

Othman-Dyary, H. (2016). Veterinary Anthelmintics and Anthelmintic Drug Resistance. *Journal of Zankoy Sulaimani*, 18:191-206.

Panigrahi, P. N., Gupta, A. R., Patra, R. C., Mohanty, B. N., Maiti, A., Sahoo, G. R. (2014). Comparative anthelmintic efficacy of ivermectin delivered through different routes in gastrointestinal nematode infected dogs. *Journal of Parasitology Disease*.

Paradis, M. (1998). Ivermectin in small animal dermatology. Part II: extralabel Applications. *The Compendium*, Montreal. 20(4):459-469.

Qadri, K., Ganguly, S., Wakchaure, R., Sharma, S., Kumar, A., Kumar, P. (2015). Resistance Anthelmintic Medications in Animals: A Review. *Annals of Pharma Research*, 3(09):144-147.

Quiroz, R. H. (2003). *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. México: Limusa.

Ramón, L., G., F. (2012). Prevalencia de helmintos gastrointestinales (Céstodos y nematodos) en caninos de la Ciudad de Cuenca. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Rodríguez-Vivas R., Cob-Galera, L., Domínguez, A. (2001). Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en el Yucatán, México. *Revista Biomédica* 12:19-25.

Rodríguez-Vivas, R.I., Arieta-Román, R.J., Pérez-Cogollo, LC., Rosado-Aguilar, J.A., Ramírez-Cruz, G.T., Basto-Estrella, G. (2010). Use of macrocyclic lactones to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 42:115-123.

Rodríguez-Vivas R., Castillo-Chab, C., Rosado-Aguilar, A., Ojeda-Chi, M. (2014). Evaluación de la eficacia y persistencia de la Moxidectina (10%) e Ivermectina (3.15%) contra infecciones naturales de nematodos gastrointestinales en bovinos del trópico mexicano. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46:69-74.

Rodríguez-Vivas R. I., Gutiérrez-Ruiz, E, Bolio-González, M. E., Ruiz-Piña, H., Ortega-Pacheco, A., Reyes-Novelo, H., Manrique-Saide, P., Aranda-Cirerol, F., Lugo-Perez, J. (2011). An epidemiological study of intestinal parasites of dogs from Yucatan, Mexico and their risk to public health. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 11(8):1141-1144.

Shalaby, H. (2013). Anthelmintics Resistance; How to Overcome it? *Iranian Journal Parasitology*, 1:18-.32.

Sievers, G., Alocilla, A. (2007). Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos del bovino en dos predios del sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 39(1):67-69.

Sumano, L.H, Ocampo, C.L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. 3ra ed., MacGraw-Hill Interamericana., México. pp. 481-482.

Taranto, N. J., Passamonte, L., Marinconz, R., Marzi, M. C., Cajal, S. P., Malchiodi, E. M. (2000). Parasitosis zoonóticas transmitidas por perros en el Chaco Salteño. *Medicina (Buenos Aires)*. 60:217-220.

Turra-Pimpão, C., Mangrich-Rocha, R. M. V., Schaefer, R., de Figueiredo-Wouk A. F. P., Maris-Cirio, S., Benato, E. M., do Amaral-Gurgel, L. G., Fronczak, M. A. (2005). Evaluation of ivermectin toxicosis in dogs. *Revista Académica Curitiba* 3(4):19-24.

Urquhart, G. H.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A. M.; Jennings, F.W. (2001). *Parasitología veterinaria*. Editorial Acribia. España. Pp 59-62.

Wolstenholme, A., Evans, C., Jiménez, P., Moorhead, A. (2015). The emergence of macrocyclic lactone resistance in the canine heartworm, *Dirofilaria immitis*. *Parasitology*, 142(10):1249-1259.

Zajac, A. N.; Conboy, G. A. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. Eight edition. Wiley-Blackwell. American Association of Veterinary Parasitologists.

ARTÍCULO QUE SERÁ ENVIADO A LA REVISTA **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios** (incluida en el Padrón de Revistas del CONACYT).

## **DETERMINACIÓN *IN VIVO* DE LA RESISTENCIA DE *Ancylostoma caninum* A LA IVERMECTINA EN PERROS DE YUCATÁN, MÉXICO**

Determination the resistance *in vivo* of *Ancylostoma caninum* to Ivermectin in dogs from Yucatan, Mexico

Isaura Jacqueline Ravell Sánchez, \*Manuel Emilio Bolio González

Departamento de Salud Animal y Medicina Preventiva, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán  
\*bgonza@correo.uady.mx

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue determinar la resistencia de la *Ancylostoma caninum* a la Ivermectina en perros. La resistencia del fármaco se evaluó con base en la reducción del número de huevos por gramo de heces (hpg) y con el intervalo de confianza al 95%. Se utilizaron 20 perros mayores a un año de edad y positivos a infecciones con *A. caninum*. Se formaron 2 grupos de 10 animales cada uno, los cuales recibieron los siguientes tratamientos: grupo 1, fungió como control y no recibió tratamiento alguno; y grupo 2, recibió 0.2 mg/kg de Ivermectina vía subcutánea (SC). En los días 0, 3, 6, 9 y 14 postratamiento se tomaron muestras de heces que fueron procesadas mediante las técnicas de Flotación Centrifugada y McMaster. El grupo 1 presentó promedios de huevos por gramo de heces de  $830 \pm 165.32$ ,  $855 \pm 164.06$ ,  $930 \pm 154.91$ ,  $840 \pm 146.81$  y  $785 \pm 149.16$  a los días 0, 3, 6, 9 y 14 postratamiento, mientras que el grupo 2 presentó promedios de  $855 \pm 130.06$ ,  $50 \pm 57.73$ ,  $40 \pm 45.94$ ,  $20 \pm 34.96$  y  $10 \pm 21.08$  con porcentajes de reducción del 94.15%, 95.69%, 97.61% y 98.72% respectivamente. Los límites inferiores del intervalo de confianza al 95% fueron menores a 90 en cada uno de los días post tratamiento. Se concluye que el tratamiento con Ivermectina produce una buena reducción de hpg de *A. caninum*, sin embargo, al ser los límites inferiores a 90 el resultado se considera sospechoso de resistencia.

**Palabras Clave:** *Ancylostoma caninum*, Resistencia, Ivermectina, Perro, Yucatán-México.

**ABSTRACT.** The aim of this study was to determine *in vivo* the resistance of *Ancylostoma caninum* to Ivermectin in Dogs. The resistance of the drug was evaluated based on the reduction of the number of eggs per gram of feces (EPG) and with the 95% confidence interval. Twenty dogs older than one year of age and positive for *A. caninum* infections were used. Two groups of 10 animals were formed, which received the following treatments: Group 1, was used as a control group and did not receive treatment; Group 2, received 0.2 mg/kg Ivermectin subcutaneously (SC). On days 0, 3, 6, 9 and 14 post-treatment faecal samples were collected and processed using the Centrifugal Flotation and McMaster techniques. Group 1 showed averages EPG of  $830 \pm 165.32$ ,  $855 \pm 164.06$ ,  $930 \pm 154.91$ ,  $840 \pm 146.81$  and  $785 \pm 149.16$  at days 0, 3, 6, 9 and 14 post-treatment, whereas Group 2 showed averages of  $855 \pm 130.06$ ,  $50 \pm 57.73$ ,  $40 \pm 45.94$ ,  $20 \pm 34.96$  and  $10 \pm 21.08$  with reduction percentages of 94.15%, 95.69%, 97.61% and 98.72% respectively. The lower limits of the 95% confidence interval were less than 90 on each of the post-treatment days. It is concluded that treatment with Ivermectin produces a good reduction EPG of *A. caninum*, however, being the limits of confidence lower than 90 the result is considered suspected of resistance.

**Key words:** *Ancylostoma caninum*, Resistance, Ivermectin, Dog, Yucatan-Mexico.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los helmintos son un grupo diverso de gusanos parásitos, que abarcan nematodos, cestodos y trematodos, y constituyen un problema de salud importante para los seres humanos y animales en muchas partes del mundo. Aunque el impacto de sus enfermedades podría ser reducido por los hábitos de higiene y el control eficiente a través de un manejo adecuado y el uso estratégico, y mínimo de antiparasitarios en los animales domésticos, tales métodos no son suficientes para erradicar estos parásitos. En ausencia de vacunas, el control de estos parásitos depende de la quimioterapia para aliviar los síntomas y reducir la transmisión. Sin embargo, en la práctica veterinaria se ha instaurado la administración intensiva de antiparasitarios como una rutina que se realiza de forma descontrolada. Este hecho constituye la principal causa del aumento de la resistencia antihelmíntica de los parásitos. Actualmente la prevalencia de la

resistencia a antihelmínticos de amplio espectro ha aumentado dramáticamente y ha pasado a provocar una grave crisis en muchos países. Se considera que la resistencia se ha establecido cuando un fármaco previamente eficaz deja de matar a la población parasitaria expuesta a las dosis terapéuticamente recomendadas (Fleming *et al.*, 2006; Jabbar *et al.*, 2006; Sievers y Alocilla, 2007; Fredrick, 2010; Lalchhandama, 2010; Bowman, 2012; Shalaby, 2013; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2014).

En la actualidad, los estudios sobre la resistencia antihelmíntica en perros no son abundantes como la encontrada en otras especies animales como los bovinos, ovinos y caprinos. Sin embargo, se han realizado estudios que demuestran la resistencia antihelmíntica de algunos parásitos a determinados fármacos. Tal es el caso de la *Dirofilaria immitis* que se ha reportado resistente a las Lactonas Macroclínicas (Geary *et al.*, 2011, Bourguinat *et al.*, 2015; Wolstenholme *et al.*, 2015) y *Ancylostoma caninum* al Pirantel (Kopp *et al.*, 2007).

La Ancilostomiasis es una infección ocasionada por la presencia y acción de larvas y adultos de *A. caninum* en el intestino delgado y otros tejidos de los caninos. Su importancia radica en su capacidad para provocar anemia y hemorragias, al ser un parásito hematófago que consume aproximadamente 0.1 ml de sangre al día; y por la zoonosis que ocasiona en humanos, denominada *Larva Migrans Cutánea*. Por otro lado, desde que la Ivermectina fue obtenida en 1979, se ha convertido en uno de los antiparasitarios más utilizados en los animales de compañía, debido a su amplio espectro contra numerosos parásitos, especialmente nematodos y artrópodos (Díaz *et al.*, 2000; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2001; Urquhart *et al.*, 2001; Quiroz, 2003; Bowman, 2009; Alfaro, 2011; Dunn *et al.*, 2011; Zajac y Conboy, 2012).

Estudios de Ivermectina en combinación con el Pirantel han registrado una eficacia del 98.5% y 99.6% para *A. caninum* en perros (Clark *et al.*, 1992; Nolan, 1992). Así mismo, Gómez-Uitzil *et al.*, (1997) encontraron en Mérida, Yucatán que la ivermectina a razón de 0.2 mg/kg de peso vivo aplicada en perros presentó una

eficacia del 99% y 100%, a los 3 y 5 días postratamiento. Estos estudios demuestran la buena eficacia de la Ivermectina para el control de *A. caninum* en perros; sin embargo, recientemente se han hecho estudios que empiezan a reportar la existencia de resistencia a este fármaco (Ibarra-Velarde *et al.*, 2015; Jesus *et al.*, 2015) debido a su constante aplicación en los perros, lo que podría estar provocando una selección de poblaciones de nematodos resistentes.

Ante esto surge la siguiente pregunta de investigación: ¿El uso constante de la Ivermectina para el control de nematodos gastrointestinales en los perros de Yucatán, México ha seleccionado poblaciones de parásitos resistentes al fármaco? Ante las consecuencias que esto podría ocasionar no sólo a la salud animal sino también a la pública, el objetivo del presente estudio es determinar *in vivo* la resistencia de *A. caninum* a la Ivermectina en perros de Mérida, Yucatán, México.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Lugar de estudio**

El estudio se realizó en la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Mérida se encuentra localizada a menos de 50 km del Golfo de México en la parte noroeste del Estado de Yucatán, sus coordenadas son 20° 41' y 21° 12' latitud Norte y 89° 27' y 89° 49' de longitud Oeste; altitud entre 7 y 10m. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura máxima alcanza los 40°C y la media es de 26.6°C. Con una población total de 830,732 personas, se reporta una relación de un perro por cada cinco habitantes (INEGI 2009, 2010).

### **2.2. Selección de los animales**

Para determinar en condiciones *in vivo* la resistencia antihelmíntica de la Ivermectina sobre *A. caninum*, se muestrearon al menos 50 perros >1 año de edad de diferentes razas de 10 clínicas veterinarias de la ciudad de Mérida. Asimismo, se tomaron heces de al menos 40 perros de una población rural de Mérida, Yucatán.



### **2.3. Toma y procesamiento de muestras**

De cada animal se obtuvieron heces directamente del recto que fueron identificadas con un código, para posteriormente ser procesadas mediante las técnicas de flotación centrifugada y McMaster, con la intención de identificar los perros positivos a *A. caninum* y verificar que eliminen  $\geq 150$  huevos por gramo de heces (hpg). De cada población de animales se tomaron al azar 10 para incluirse en el experimento (Coles *et al.*, 2006).

### **2.4. Tratamientos**

Una vez identificados los perros se formaron 2 grupos de 10 animales cada uno, balanceados en cuanto a la cantidad de hpg; el primer grupo fungió como control por lo que no recibió tratamiento alguno, el grupo 2 recibió tratamiento a base de Ivermectina a dosis única de 0.2 mg/kg de peso vivo, vía subcutánea. Previo al tratamiento los perros se pesaron para determinar la dosis por cada animal. La aplicación de la Ivermectina se realizó a través de la vía subcutánea y en los días 0, 3, 6, 9 y 14 días postratamiento, se tomaron muestras de heces a todos los animales para determinar el número de hpg, las cuales se analizaron por la técnica de McMaster (Rodríguez-Vivas y Cob-Galera, 2005).

### **2.5. Análisis estadístico**

La resistencia antihelmíntica se determinó a través de la reducción de la cuenta de huevos usando el programa RESO. Para la determinación del porcentaje de reducción de huevos se utilizó la fórmula de Coles *et al.*, (1992): % de reducción =  $100 (1 - \bar{X}_t / \bar{X}_c)$ . Dónde,  $\bar{X}_c$ : Media aritmética del conteo de huevos del grupo control y  $\bar{X}_t$ : Media aritmética del conteo de huevos del grupo tratado. El antihelmíntico se consideró efectivo cuando la reducción de la cuenta de HPG fue  $\geq 95$  por ciento y con un límite de confianza inferior (IC 95%) superior al 90%. Cuando ambos criterios no se obtenían se consideró a los NGI resistente al fármaco. Si sólo se cumplía uno de los dos criterios se consideró como sospechoso (Coles *et al.*, 1992).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se presentan los promedios del conteo de huevos obtenidos previo al tratamiento antihelmíntico y en los días 3, 6, 9 y 14 pos tratamiento donde puede observarse una reducción significativa a partir del día 3 del tratamiento ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 1.** Análisis coprológico del promedio de huevos por gramo de heces (hpg) del grupo control y grupo tratado con Ivermectina con sus porcentajes de reducción e intervalo de confianza al 95%.

Tiempo	Grupo Control	Tratado	Reducción
Días	HPG Media $\pm$ DE		% 95% IC
0	830 $\pm$ 165.32	855 $\pm$ 130.06	
3	855 $\pm$ 164.06	50 $\pm$ 57.73	94.15% 14.21-85.78
6	930 $\pm$ 154.91	40 $\pm$ 45.94	95.69% 11.52-68.47
9	840 $\pm$ 146.81	20 $\pm$ 34.96	97.61% -1.66-41.66
14	785 $\pm$ 149.16	10 $\pm$ 21.08	98.72% -3.06-23.06
<b>Diagnóstico</b>			Sospechoso

A pesar de que existen numerosos estudios acerca de la eficacia de la Ivermectina en las diferentes especies animales, aún no se ha reportado resistencia de su uso en perros como es el caso de otras especies. En México y principalmente en el Estado de Yucatán, no se cuenta con estudios recientes de la eficacia de dicho fármaco. En el presente trabajo se observó que los animales que recibieron tratamiento con Ivermectina, mostraron una reducción en la eliminación de hpg de *A. caninum*. Sin embargo, los límites inferiores del intervalo de confianza al 95% de los días postratamiento fueron menores a 90. Esta condición ubica a los NGI como sospechosos (Coles *et al.*, 1992).

La Ivermectina presentó reducciones del 94.15%, 95.69%, 97.61% y 98.72% a los días 3, 6, 9 y 14 postratamiento (Cuadro 2) en el conteo de huevos de *A. caninum*, esto concuerda con lo reportado en India por Panigrahi *et al.*, (2014), quienes compararon el mismo fármaco a dosis de 0.5mg/kg/pv en dos diferentes rutas de administración (subcutánea y oral), el porcentaje de reducción de HPG encontrado para el primer grupo fue de 92.10% y 98.02% al día 7 y 15 postratamiento respectivamente y del 91.12% y 96.05% para el segundo grupo de

animales; demostrando una buena eficacia de la Ivermectina a los 14 días postratamiento contra *A. caninum*. Asimismo Jesus *et al.*, (2015), reportaron en Argentina una eficacia del 95.2% a los 10 días postratamiento contra *A. caninum*, utilizando Ivermectina oral indicando una baja resistencia al fármaco. En Irán, Khayatnouri y Garedaghi (2012) utilizaron una formulación pour-on de Ivermectina en perros infectados con *A. caninum*, el porcentaje de reducción de HPG a los días 1, 7, 21 y 28 fue de 21.19%, 68.21%, 91.24% y 98.61% respectivamente; de acuerdo a estos resultados es posible determinar que la administración pour on de Ivermectina disminuyó la infestación natural de *A. caninum* en los perros tratados, la eficacia del fármaco en los parásitos fue mayor al 98%.

En un estudio realizado en México, Ibarra-Velarde *et al.*, (2015), compararon dos formulaciones pour-on de Ivermectina al 0.2% y 0.5% respectivamente a dosis de 1ml/10kg/pv reportando una baja eficacia en la reducción de HPG de *A. caninum* del 50.7%, 47.1%, 42.3% y 50.4% a los días 7, 14, 21 y 28 postratamiento para la formulación al 0.2%; y del 100%, 87.5%, 83.3% y 79% respectivamente para la formulación al 0.5%. Asimismo, Gómez-Uitzil *et al.*, (1997) encontraron en Mérida, Yucatán que la Ivermectina a razón de 0.2 mg/kg de p.v. aplicada en perros presentó una eficacia del 99% y 100%, a los 3 y 5 días postratamiento. Estos estudios demuestran la buena eficacia de la Ivermectina para el control de *A. caninum* en perros. Los estudios experimentales indican que cuando el fármaco se utiliza en dosis altas tiene un espectro más amplio de actividad, sin embargo, a dosis de 0.05mg/kg vía subcutánea, se elimina al parásito *A. caninum*. En el estudio no se tomó en cuenta las razas de los perros, sin embargo, hay que tener presente que perros de la raza Collie son más susceptibles al uso de este fármaco pudiéndoles causar problemas de toxicidad (Paradis, 1998; Lifschitz *et al.*, 2002; Lefkaditis 2005; González-Canga *et al.*, 2009).

También se ha encontrado una prevalencia mayor del parásito en perros que se encuentran en zonas rurales en comparación de los de las zonas urbanas. Por ejemplo, Ashraf *et al.*, (2008), reportaron una prevalencia del 72% en perros

de zonas rurales y del 54% en perros de zonas urbanas. Mahdy *et al.*, (2012), encontró una prevalencia del 71.4% en perros rurales por un 48% en perros que viven en áreas urbanas. En el presente estudio se tomaron en cuenta ambas zonas del Estado, sin embargo, no se determinó una prevalencia por área.

En conclusión, la Ivermectina aplicada a perros en forma subcutánea y a dosis de 0.2 mg/kg tuvo un porcentaje de reducción del 94.15%, 95.69%, 97.61% y 98.72% a los días 3, 6, 9 y 14 postratamiento, sin embargo el intervalo de confianza al 95% mostró que los límites inferiores se encontraban por debajo de 90 indicando que la Ivermectina era sospechosa de resistencia. Por otro lado, los estudios encontrados a excepción del de Ibarra-Velarde reportaron una buena eficacia del fármaco contra *A. caninum*, pero sólo utilizaron el criterio de porcentaje de reducción para establecer la eficacia sin tomar en cuenta el intervalo de confianza al 95%.

## LITERATURA CITADA

- Alfaro, A. M. L. (2011). Prevalencia de *Ancylostoma caninum* en *Canis lupus familiaris* en el área urbana y periurbana de la colonia Zacamil, del municipio de Mejicanos, San Salvador. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador.
- Ashraf, K., Rafique, H., Maqbool, A., Chaudhary, Z. (2008). Ancylostomosis and its therapeutic control in dogs. *Journal Veterinary Animal Science* 1:40-44.
- Bourguinat, C., Lee, A., Lizundia, R., Blagburn, B., Liotta, J., Kraus, M., Keller, K., Epe, C., Letoureau, L., Kleinman, C., Paterson, T., Gómez, E., Montoya, J., Smith, H., Bhan, A., Peregrine, A., Carmichael, J., Drake, J., Schenker, R., Kaminsky, R., Bowman, D., Geary, T., Prichard, R. (2015). Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: Failure of heartworm preventives and investigation of genetics markers for resistance. *Veterinary Parasitology*, 210:167-178.
- Bowman, D. D. (2009). *Parasitology for veterinarians*. Ninth edition. SAUNDERS ELSEVIER. London.
- Bowman, D. (2012). Heartworms, macrocyclic lactones and the specter of resistance to prevention in the United States. *Parasites & Vectors*, 5:138-148.
- Clark, J. N., Daurio, C. P., Plue, R. E., Wallace, D. H., Longhofer, S. L. (1992). Efficacy of Ivermectin and Pyrantel pamoate combined in a chewable formulation against heartworm, hookworm, and ascarid infections in dogs. *American Journal Veterinary Research* 53(4):517-520.
- 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 (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44:35-44.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., Von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136:167-185.

Díaz., C. A., Espuny, A., Escudero, E., Cárceles, C. M. (2000). Farmacología de los endectocidas: Aplicaciones terapéuticas. AN. VET. (MURCIA), 16:15-40.

Dunn, S. T., Hedges, L., Sampson, K. E., Lai, Y., Mahabir, S., Balogh, L. Locuson, C. W. (2011). Pharmacokinetic interaction of the antiparasitic agents ivermectin and spinosad in dogs. *Drug, Metabolism and Disposition*. 39(5):789-795.

Fleming, S., Craig, T., Kaplan, R., Miller, J., Navarre, C., Rings, M. (2006). Anthelmintic Resistance of Gastrointestinal Parasites in Small Ruminants. *Journal Veterinary Intern Medicine*, 20:435-444.

Fredrick, C., (2010). Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1):524-528.

Geary, T., Bourguinat, C., Prichard, R. (2011). Evidence for Macrocyclic Lactone Anthelmintic Resistance in *Dirofilaria immitis*. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(4):186-192.

González-Canga, A., Sahagún-Prieto, A.M., Díez-Liévana, M.J., Fernández-Martínez, N., Sierra-Vega, M., García-Vieitez, J.J. (2009). The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal* 179, 25-35.

Gómez-Uitzil, J.G., Rodríguez-Vivas, R.I., Bolio-González, M. (1997) Determinación de la eficacia de la Doramectina e Ivermectina subcutánea sobre la eliminación de huevecillos y parásitos adultos de *Ancylostoma caninum*. *Universidad y Ciencia* 13(25):31-35.

Ibarra-Velarde, F., Vera-Montenegro, Y., Ambía-Medina, J., Sánchez-Peralta, K., Ochoa-Galván, P. (2015) Comparison of two formulations of ivermectin against gastrointestinal worms, fleas and lice in naturally infected stray dogs. *Pharmacology & Pharmacy* 6, 177-184.

INEGI (2009) Tipos de clima en Yucatán.

INEGI (2010) Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Mérida, Yucatán; clave geostadística 31050.

- Jabbar, A., Labal, Z., Kerboeu, D., Ghulam, M., Khan, M., Afaq, M. (2006). Anthelmintic resistance: The state of play revisited. *Life Sciences*, 79:2413-2431.
- Jesus, A.P., Holsback, L., Selingardi, M.S., Lahm-Cardoso, M.J., Ribeiro-Cabral, L.D., Rodrigues-Santos, T. (2015). Efficacy of pyrantel pamoate and ivermectin for the treatment of canine nematodes. *Ciências Agrárias Londrina* 36(6):3731-3740.
- Khayatnouri, M.H., Garedaghi, Y. (2012) Efficacy of ivermectin pour-on administration against natural *Ancylostoma caninum* infestation in native dogs of East-Azerbaijan Province, Iran. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11(4):526-530.
- Kopp, S. R., Kotze, C. A., McCarthy, S. J., Coleman, T. G. (2007). High-level pyrantel resistance in the hookworm *Ancylostoma caninum*. *Veterinary Parasitology*. ELSEVIER. 143(3-4):299-304.
- Lalchhandama, K. (2010). Anthelmintic resistance: The song remains the same. *Science Vision*, 10(4):111-122.
- Lefkaditis, A.M. (2005) Study on the efficacy of the treatment protocol of 25 cases of pyodermodecosis, with ivermectin, amitraz, and trimethoprim-sulfadiazine. *Scientia Parasitologica* 1-2, 116-118.
- Lifschitz, A., Virkel, G., Imperiale, F., Pis, A., Lanusse, C. (2002) Fármacos endectocidas: avermectinas y milbemicinas. En: Botana, L.M., Landoni, F., Matín-Jiménez, T. (eds). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España. Pp 545-558.
- Mahdy, M., Al-lim, I., Ngi, R., Siti-Fatimah, M.R., Choy, S., Al-Mekhlafi, H.M., Ibrahim, J., Surin, J. (2012) Prevalence and zoonotic potential of canine hookworms in Malasya. *Parasites & Vectors* 5:88.
- Nolan, T.J., Hawdon, J.M., Longhofer, S.L., Daurio, C.P., Schad, G.A. (1992) Efficacy of an Ivermectin/Pyrantel pamoate chewable formulation against the canine hookworms, *Uncinaria stenocephala* and *Ancylostoma caninum*. *Veterinary Parasitology* 41(1-2):121-125.

- Panigrahi, P.N., Gupta, A.R., Patra, R.C., Mohanty, B.N., Maiti, A., Sahoo, G.R. (2014) Comparative anthelmintic efficacy of ivermectin delivered through different routes in gastrointestinal nematode infected dogs. *Journal of Parasitology Disease*.
- Paradis, M. (1998) Ivermectin in small animal dermatology. Part II: extralabel Applications. *The Compendium Montreal* 20(4):459-469.
- Quiroz, R. H. (2003). *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. México: Limusa.
- Rodríguez-Vivas R., Cob-Galera, L., Domínguez, A. (2001). Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en el Yucatán, México. *Revista Biomédica* 12:19-25.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Cob-Galera, L. A. (2005). Técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria. 2da edición. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Pp. 49-51 y 66-69.
- Shalaby, H. (2013). Anthelmintics Resistance; How to Overcome it? *Iranian Journal Parasitology*, 1:18-.32.
- Sievers, G., Alocilla, A. (2007). Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos del bovino en dos predios del sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 39(1):67-.69.
- Turra-Pimpão, C., Mangrich-Rocha, R. M. V., Schaefer, R., de Figueiredo-Wouk, A. F. P., Maris-Cirio, S., Benato, E. M., do Amaral-Gurgel, L. G., Fronczak, M. A. (2005). Evaluation of ivermectin toxicosis in dogs. *Revista Académica Curitiba* 3(4):19-24.
- Urquhart, G. H.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A. M.; Jennings, F.W. (2001). *Parasitología veterinaria*. Editorial Acribia. España. Pp 59-62.
- Wolstenholme, A., Evans, C., Jiménez, P., Moorhead, A. (2015). The emergence of macrocyclic lactone resistance in the canine heartworm, *Dirofilaria immitis*. *Parasitology*, 142(10):1249-1259.



Zajac, A. N.; Conboy, G. A. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. Eight edition. Wiley-Blackwell. American Association of Veterinary Parasitologists.