

# PRUEBA DE EFICACIA DE UNA COMBINACIÓN DE NAFTALOFOS Y LEVAMISOLE (MICRONAPH PLUS) CONTRA NEMATODOS DE MAYOR IMPORTANCIA SANITARIA EN OVINOS

Se seleccionaron 52 corderos (Corriedale x Highlander) con comprobada infestación natural de nematodos gastrointestinales (NGI) con los más altos conteos de huevos (rango 600 - 14700 H.p.g.).

Los grupos fueron debidamente individualizados y sorteados al azar, para conformar:

Grupo Testigo (n=12-sin tratamiento)

**Grupo MICRONAPH PLUS (n=12, que aportaba 30 mg de Naftalofos más 9,4 mg Levamisole por Kg de p.v.)**

Grupo MICRONAPH (n=12 Naftalofos, que aportaba 30 mg de Naftalofos por Kg de p.v.)

Grupo LEVAMIC (n= 12 Levamisole, que aportaba 9 mg de Levamisole por Kg de p. v.)

Los Cultivos de larvas al inicio del ensayo, mostraron poblaciones parasitarias mixtas, con predominancia de:

*Haemonchus spp* (54 %)

*Trichostrongylus spp* (40 %)

*Ostertagia spp* (2 %)

*Cooperia spp* (2 %)

*Oesophagostomum spp* (2 %)

Una vez efectuada la primera evaluación de los productos, a través de la prueba de Reducción de Conteos de Huevos (RCH) 12 animales experimentales (3 por grupo) fueron sacrificados (Día +16) para realizar conteos e identificación de nematodos.

Se encontraron además géneros no detectados previamente en los Cultivos de larvas, como *Nematodirus spp* y *Trichuris spp*.

A los niveles de dosis establecidos, la eficacia global (suma de todos los NGI) fue:

**97.1 % para el MICRONAPH PLUS (Naftalofos + Levamisole)**

95.0 % para el MICRONAPH (mono droga)

91.1 % para el LEVAMIC (mono droga).

**Los resultados obtenidos muestran una alta eficacia del MICRONAPH PLUS 98.0 % sobre *H. contortus*, el nematodo más prevalente y patógeno en ovinos y de un 98 % para *T. colubriformis* el segundo en importancia en ovinos.**

Eficacias relativas en las mono-drogas (Naftalofos y Levamisole HCl) sobre:

***H. contortus*:**

93% Naftalofos

92% Levamisole HCl

***T. colubriformis*:**

91% para ambos grupos de mono-drogas

Se destaca además, las ventajas comparativas de la utilización de la combinación que presenta una eficacia superior al Naftalofos (mono droga) y Levamisole (mono droga) contra *H. contortus* y *T. colubriformis* y todos los demás NGI.

La Combinación, demostró además, ser efectiva contra:

*Ostertagia spp* (100 %)

*Cooperia spp* (95 %)

*Nematodirus spp* (94 %)

*T. axei* (100 %)

Se discuten las evidencias científicas existentes, sobre la utilización de un compuesto que incluya un activo (NTF) que aún no haya desarrollado resistencia antihelmíntica, combinado con otro que tenga un sitio de ataque diferente sobre las poblaciones de NGI.

Esta característica es relevante, cuando la resistencia a Lactonas Macrocíclicas es generalizada (especialmente a Ivermectina) y paulatinamente se van perdiendo grupos de antihelmínticos para rotar.

## Cálculo de eficacia y clasificación del producto.

El porcentaje de eficacia del antihelmíntico, se calculó utilizando la media aritmética de cada género-especie de NGI, agrupados por órgano en cada grupo experimental, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia \%} = \frac{[\text{control} - \text{tratados}]}{\text{control}} \times 100$$

Se calculó el Control Total (todos los parásitos-órganos del tracto gastrointestinal) y por género-especie parasitaria.

El producto fue clasificado (Cuadro 1) de acuerdo a la W.A.A.V.P. 1995.

CLASIFICACIÓN	EFICACIA
Altamente efectivo	>98 %
Efectivo	90-98 %
Moderadamente Efectivo	80-89 %
Insuficientemente Efectivo	< 80 %

Cuadro 1. Clasificación de antihelmínticos según grado de eficacia

## RESULTADOS

Cultivo de Larvas antes de comenzar el estudio.

En la Figura 1 se observa la distribución porcentual de los géneros de NGI antes del tratamiento. Los géneros predominantes fueron:

- *Haemonchus spp* (54 %)
- *Trichostrongylus spp* (40 %)
- *Ostertagia spp.* (2 %)
- *Cooperia spp* (2 %)
- *Oesophagostomum spp* (2%)

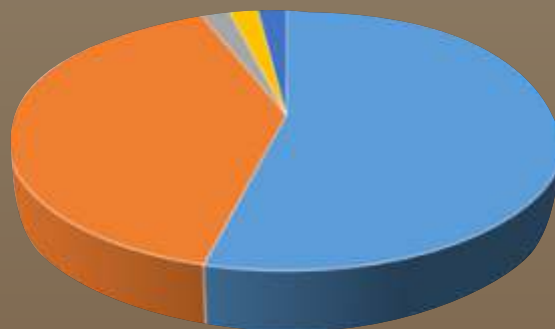


Figura 1. Distribución relativa de los principales géneros de nematodos gastrointestinales en el período pre-tratamiento.

### Valores y análisis de H.p.g (pre y post tratamiento)

El cuadro 2, resume los valores totales de H.p.g y medias aritméticas por grupo de corderos, durante el Día 0 (tratamiento) y post tratamiento (Día +14).

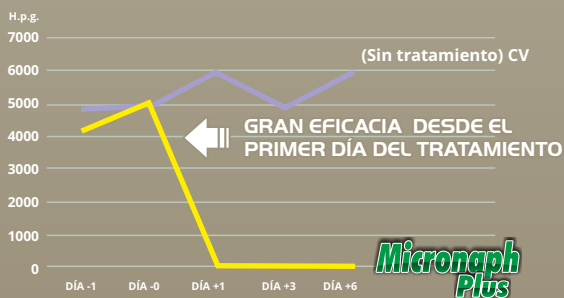
La eficacia global fue del:

**100 % MICRONAPH PLUS** (Naftalofos + Levamisole)

95 % MICRONAPH (NTF 30 mg/kg)

92 % LEVAMIC (LVM-HCL).

Todos los otros resultados que se presentan a continuación, corresponden a la necropsia de los animales experimentales.



Cuadro 2. Evolución de la carga parasitaria (H.p.g) en grupos de corderos dosificados con **Micronaph plus** y Controles sin tratamiento

### Necropsia Parasitaria

El Cuadro 3, Datos obtenidos para abomasum.

Se presentan para cada género /especie de NGI los porcentajes de eficacia para cada producto en estudio.

Cuadro 3. Contaje de NGI en abomasum para los cuatro grupos experimentales (Testigos/Tratados).

#### ABOMASUM

TESTIGO	CARAVANA	HAEM.	TRICH.	OSTER.	NTF-30	CARAVANA	HAEM.	TRICH.	OSTER.
1	3840	890	200		11	180	30	30	
48	2330	810	190		61	160	0	10	
93	1820	690	297		75	200	0	10	
<b>TOTAL</b>	<b>7990</b>	<b>1000</b>	<b>687</b>		<b>TOTAL</b>	<b>540</b>	<b>30</b>	<b>50</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>2663</b>	<b>333</b>	<b>230</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>180</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
<b>EFICACIA</b>					<b>EFICACIA</b>	<b>93%</b>	<b>99%</b>	<b>98%</b>	

COMBO	CARAVANA	HAEM.	TRICH.	OSTER.	LVM-HCL	CARAVANA	HAEM.	TRICH.	OSTER.
65	50	0	0		20	150	30	100	
81	60	0	0		56	200	20	20	
98	10	0	0		80	350	15	40	
<b>TOTAL</b>	<b>120</b>	<b>0</b>	<b>0</b>		<b>TOTAL</b>	<b>700</b>	<b>65</b>	<b>160</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>40</b>	<b>0</b>	<b>0</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>233</b>	<b>22</b>	<b>53</b>	
<b>EFICACIA</b>	<b>98%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>		<b>EFICACIA</b>	<b>92%</b>	<b>93%</b>	<b>77%</b>	

El cuadro 4, Datos obtenidos para el Intestino delgado.

Se presentan para cada género/especie de NGI los porcentajes de eficacia para cada producto en estudio.

Cuadro 4. Contaje de NGI en Intestino Delgado para los cuatro grupos experimentales (Testigos/Tratados)

#### INTESTINO DELGADO

TESTIGO	CARAVANA	T. COLUMBR.	COOPERIA	NEMATOD.	NTF-30	CARAVANA	T. COLUMBR.	COOPERIA	NEMATOD.
1	1400	230	50		11	57	115	12	
48	900	600	40		61	150	85	18	
93	1500	234	10		75	123	10	6	
<b>TOTAL</b>	<b>3800</b>	<b>1064</b>	<b>100</b>		<b>TOTAL</b>	<b>330</b>	<b>210</b>	<b>36</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>1267</b>	<b>355</b>	<b>33</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>110</b>	<b>70</b>	<b>12</b>	
<b>EFICACIA</b>					<b>EFICACIA</b>	<b>91%</b>	<b>80%</b>	<b>64%</b>	

COMBO	CARAVANA	T. COLUMBR.	COOPERIA	NEMATOD.	LVM-HCL	CARAVANA	T. COLUMBR.	COOPERIA	NEMATOD.
65	70	10	2		20	220	80	6	
81	90	40	0		56	100	110	3	
98	80	0	4		80	40	10	3	
<b>TOTAL</b>	<b>240</b>	<b>50</b>	<b>6</b>		<b>TOTAL</b>	<b>360</b>	<b>200</b>	<b>12</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>80</b>	<b>17</b>	<b>2</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>120</b>	<b>67</b>	<b>4</b>	
<b>EFICACIA</b>	<b>94%</b>	<b>95%</b>	<b>94%</b>		<b>EFICACIA</b>	<b>91%</b>	<b>81.1%</b>	<b>88%</b>	

El cuadro 5, Datos obtenidos para el Intestino Grueso.

Se presentan para cada género/especie de NGI los porcentajes de eficacia para cada producto en estudio.

Cuadro 5. Contaje de NGI en Intestino Grueso para los cuatro grupos experimentales (Testigos/Tratados)

#### INTESTINO GRUESO

TESTIGO	CARAVANA	OSESOPH.	TRICHURIS	NTF-30	CARAVANA	OSESOPH.	TRICHURIS
1	10	6		11	10	3	
48	19	9		61	6	11	
93	17	10		75	5	4	
<b>TOTAL</b>	<b>46</b>	<b>25</b>		<b>TOTAL</b>	<b>21</b>	<b>18</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>15</b>	<b>8</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	
<b>EFICACIA</b>				<b>EFICACIA</b>	<b>53%</b>	<b>25%</b>	

COMBO	CARAVANA	OSESOPH.	TRICHURIS	LVM-HCL	CARAVANA	OSESOPH.	TRICHURIS
65	0	0		20	1	0	
81	8	0		56	4	0	
98	0	0		80	8	10	
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>0</b>		<b>TOTAL</b>	<b>13</b>	<b>10</b>	
<b>PROMEDIO</b>	<b>3</b>	<b>0</b>		<b>PROMEDIO</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	
<b>EFICACIA</b>	<b>80%</b>	<b>100%</b>		<b>EFICACIA</b>	<b>73%</b>	<b>63%</b>	

El Cuadro 6, Valores correspondientes a la sumatoria de todos los NGI del Abomaso, Intestino Delgado e Intestino Grueso por separado.

Para cada órgano, se incluye el porcentaje de eficacia de cada compuesto para el total de NGI.

Cuadro 6. Número de NGI para cada órgano del tracto gastrointestinal y eficacia global por grupo experimental MICRONAPH PLUS (COMBO) MICRONAPH (NTF-30), LEVAMIC (LVM-HCL)

ABOMASUM			INTESTINO DELGADO		
TESTIGOS	TOTAL NGI	EFICACIA	TESTIGOS	TOTAL NGI	EFICACIA
COMBO	120	99,7%	COMBO	296	94,0%
NTF_30	620	93,5%	NTF_30	729	45,0%
LVM^HCL	925	90,4%	LVM^HCL	349	92,9%

INTESTINO GRUESO		
TESTIGOS	TOTAL NGI	EFICACIA
COMBO	8	88,7%
NTF_30	39	45%
LVM^HCL	23	67,8%

Cuadro 7. Número de NGI para todo el tracto gastrointestinal y eficacia global por grupo experimental: MICRONAPH PLUS (COMBO) MICRONAPH (NTF-30), LEVAMIC (LVM-HCL)

EFICACIA GLOBAL		
TESTIGOS	TOTAL NGI	EFICACIA
COMBO	424	97,1%
NTF_30	728	95,0%
LVM^HCL	1297	91,1%



## Cálculo final de eficacia y clasificación de los productos estudiados

Eficacia Global (todos los (NGI) los tres productos estudiados)  
**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 97,1 %.** Clasificación: **Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p.v.) 95 %. Clasificación: Efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 91,1 %. Clasificación: Efectivo

### Eficacia por órgano del tracto gastrointestinal

Abomasum

**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 99,7 %** Clasificación: **Altamente Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p. v.) 93,5 %. Clasificación: Efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 90,4 %. Clasificación: Efectivo

Intestino Delgado

**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 94.0 %.** Clasificación: **Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p. v.) 85.3 %. Clasificación: Moderadamente Efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 92.9 %. Clasificación: Efectivo

Intestino Grueso

**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 88.7 %.** Clasificación: **Insuficientemente Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p. v.) 45.0 %. Clasificación: No efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 67.8 %. Clasificación: Moderadamente Efectivo

### Eficacia por especie de nematodo de mayor importancia epidemiológica

*Haemonchus contortus.*

**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 98 %.** Clasificación: **Altamente Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p. v.) 93 %. Clasificación: Moderadamente Efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 92 %. Clasificación: Efectivo

*Trichostrongylus colubriformis*

**MICRONAPH PLUS (NTF + LVM HCL) 94 %.** Clasificación: **Efectivo**  
MICRONAPH (NTF- 30mg/kg p. v.) 91 %. Clasificación: Efectivo  
LEVAMIC (LVM-HCL) 91 %. Clasificación: Efectivo

La combinación estudiada, clasificó como eficaz (W.A.A.V.P., 1995) para todos NGI presentes en lo ovinos experimentales (97 % de control global). Dicha eficacia fue debida fundamentalmente a su excelente eficacia sobre *H. contortus*, el principal NGI en ovinos de la región (98 % de eficacia). Así mismo, dicha combinación, clasificó como eficaz (94 %) contra *T. colubriformis*, el segundo NGI de importancia epidemiológica en el país. Estas consideraciones generales, permiten profundizar en el criterio de selección de este tipo de compuesto, de acuerdo a la epidemiología y manejo de las principales parasitosis por NGI en ovinos.

### Criterios de selección del compuesto.

#### Eficacia: MICRONAPH PLUS versus MICRONAPH y LEVAMIC

En este estudio, las poblaciones de los distintos géneros/ especies parasitarias fueron representativas de lo que epidemiológicamente ocurre en el país. Frente a igual desafío parasitario, la Combinación presentó una mayor eficacia contra *H. contortus* que sus principios activos formulados por separado (NTF- 30/ 93 % y LVM-HCL/ 91 %). Lo mismo ocurrió con *T. colubriformis* para el cual se obtuvo una eficacia del 91 % luego de aplicar ya sea NTF- 30 o LVM-HCL. En relación a la eficacia relativa sobre otros géneros de NGI presentes en ovinos, la Combinación siempre fue superior a la de sus dos mono-drogas. La otra situación epidemiológica a considerar es el aumento de *Oesophagostomum spp* luego de aplicaciones repetidas de NTF (Nari, et al. 2013). La aplicación de una combinación con las características de esta Combinación permitiría mejorar la eficacia global estableciendo un mejor control sobre los nematodos de Intestino Grueso. Finalmente, esta combinación podría estar indicada en todas aquellas situaciones epidemiológicas donde *Haemonchu spp.* es más prevalente (mediados de

primavera a fines de otoño).

Su alta eficacia sobre *Haemonchus spp*, *Nematodirus spp* y la baja persistencia de los activos que la componen, lo hace apropiado para ser utilizado en el destete de corderos sobre pasturas seguras (menor presión de selección).

### Consideraciones gales. de resistencia:

Combinaciones versus mono drogas.

La resistencia antihelmíntica es endémica en países del MERCOSUR complicando el control de las principales especies de NGI.

Considerando el nematodo más prevalente y patógeno que es el *Haemonchus spp*, la situación se ha vuelto insostenible con las Lactonas macrocíclicas, Bencimidazoles y en alguna medida los Imidazotiazoles (LVM).

Afortunadamente aún no hay comunicaciones de resistencia al NTF.

La disponibilidad de combinaciones con diferentes mecanismos de acción y resistencia, tienen dos ventajas y justificaciones principales (Bartram et al., 2012, Leathwick, 2012):

- Mantener el control de NGI, en presencia de cierto grado de resistencia a una de las drogas de la combinación (ej LVM). Este punto es de importancia práctica, cuando la disponibilidad de mono drogas eficaces disponibles se va extinguiendo.

- Enlentecer el desarrollo de resistencia en NGI de importancia productiva (ej *Haemonchus spp*) a un antihelmíntico que aún no ha desarrollado resistencia.

Existen evidencias científicas que esto se produce por el aumento de la eficacia sobre los genotipos de nematodos resistentes, lo que permite una mayor dilución con los genotipos susceptibles disponibles en el refugio.

Este fenómeno ocurriría no solo sobre el activo que no ha desarrollado resistencia (ej. NTF) sino también, en aquel que ya presenta cierto grado de resistencia (ej. LVM). La combinación, sería más efectiva de utilizar, en pasturas seguras, donde el poder de dilución de refugio es limitado.

Es de importancia que las drogas a combinar, dispongan no solo, de un mecanismo diferente de acción sobre el parásito sino que ambas tengan períodos de persistencia similares en el animal.

En este sentido, cabe mencionar que tanto el NTF y LVM actúan sobre el sistema nervioso del nematodo, pero en sitios diferentes (Le jambre and Martin., 1979).

Por otro lado, es claro que si la eficacia de uno de los componentes expira antes que el otro, no habrá enlentecimiento del desarrollo de resistencia, durante el período subsiguiente (Roush, 1989).

Por lo expuesto, se entiende que la combinación propuesta presenta las siguientes ventajas:

- 1) Buena eficacia global
- 2) Excelente eficacia sobre *Haemonchus spp*
- 3) Baja persistencia de ambos compuestos, lo que le permitirían ser utilizado en distintas situaciones de manejo.

**Micronaph Plus**  
NAFTALOFOS 15.0g  
LEVAMISOL HCl 4,7g