

## Diferencias morfológicas en las venas de la bolsa copulatrix como identificación fenotípica en poblaciones de *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistentes a benzimidazoles

### Morphological differences in veins of the bursa copulatrix as phenotypic identification in populations of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistant to benzimidazoles

Giudici Claudio Juan<sup>1\*</sup>, Illanes Federico Adrián<sup>2</sup>, Niño Uribe Alvaro Iván<sup>2,3</sup>, Pruzzo César Iván<sup>2</sup>, Romero Jorge Roberto<sup>2</sup>

**RESUMEN:** El objetivo del trabajo fue analizar la variabilidad y la singularidad de las venaciones bursales entre distintos aislamientos y linajes de *Haemonchus contortus*, provenientes del reemplazo de poblaciones resistentes a benzimidazoles por otras poblaciones susceptibles a estos antihelmínticos. Por medio de un procesamiento numérico de fotos digitales de las bolsas caudales, obtenidas al microscopio óptico, se analizaron los individuos de cuatro aislamientos: uno resistente, otro susceptible, y dos en proceso de reemplazo de poblaciones resistentes por susceptibles. Las imágenes fueron obtenidas de machos de los cuatro aislamientos, del área comprendida entre el tercer y cuarto rayo del lóbulo derecho. Se realizó un análisis biométrico de las imágenes digitales que consistió en escanear en píxeles las venaciones de cada nematodo por medio de edición gráfica, con el fin de obtener los valores de radiancia de su morfología. Para el análisis estadístico se recurrió a un Análisis Multivariado Discriminante, que clasificó correctamente al 95% en los individuos de los cuatro aislamientos considerados globalmente y entre 85% y 100 % en las poblaciones susceptibles o resistentes a benzimidazoles. El resultado obtenido permitiría disponer de una herramienta para identificar poblaciones de *H. contortus* - en este caso resistentes y susceptibles a benzimidazoles- a partir de las singularidades morfológicas en las venaciones de las bolsas caudales.

**Palabras clave:** *Haemonchus contortus*, resistencia antihelmíntica, benzimidazoles, bolsa copulatrix, venas

**ABSTRACT:** The objective of the work was to analyze the variability and uniqueness of bursal venations among different isolates and lineages of *Haemonchus contortus*, resulting from the replacement of populations benzimidazole-resistant by populations susceptible to these anthelmintics. By means of numerical processing of digital photos of the caudal bursa, obtained by light microscopy, we analyzed individuals of four isolates: one resistant, one susceptible, and two from the process of population replacement from benzimidazole-resistant to susceptible ones. The images were obtained from males of each of the four isolates from the area between the third and fourth rays of the right lobe. A biometric analysis of the digital images was carried out, which consisted of scanning the venations of each nematode in pixels by means of graphic editing, in order to obtain the radiance values in their morphology. For the statistical analysis, a Discriminant Multivariate Analysis was used, which classified correctly 95% of the individuals of the four isolates and 85% - 100% among the susceptible or resistant populations. The results obtained would provide a tool to identify populations of *H. contortus*- in this case benzimidazole-resistant or susceptible- based on morphological singularities in the bursal venation.

**Keywords:** *Haemonchus contortus*, anthelmintic resistance, benzimidazoles, bursa copulatrix, veins

#### INTRODUCCIÓN

*Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (Trichostrongyloidea, Haemonchidae) es un parásito abomasal de rumiantes domésticos y silvestres que impacta en la salud y la productividad de ovinos y caprinos en todo el mundo. Probablemente su alta fecundidad y breve intervalo intergeneracional, sumado a su plasticidad fenotípica, permiten la

adaptación de *H. contortus* a diversos climas y tratamientos antihelmínticos (Emery et al., 2016).

El tegumento, conformado por la cutícula y la hipodermis, otorga a estos nematodos las funciones biológicas de alimentarse, moverse y regular su equilibrio osmótico. La cutícula (CT), generada por la hipodermis, es una de las vías de absorción de los fármacos antihelmínticos (Lanusse et al., 2016),

<sup>1</sup> Cátedra de Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Spangenberg 1000 (2170) Casilda, Santa Fe, Argentina.

<sup>2</sup> Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 118 S/N (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.

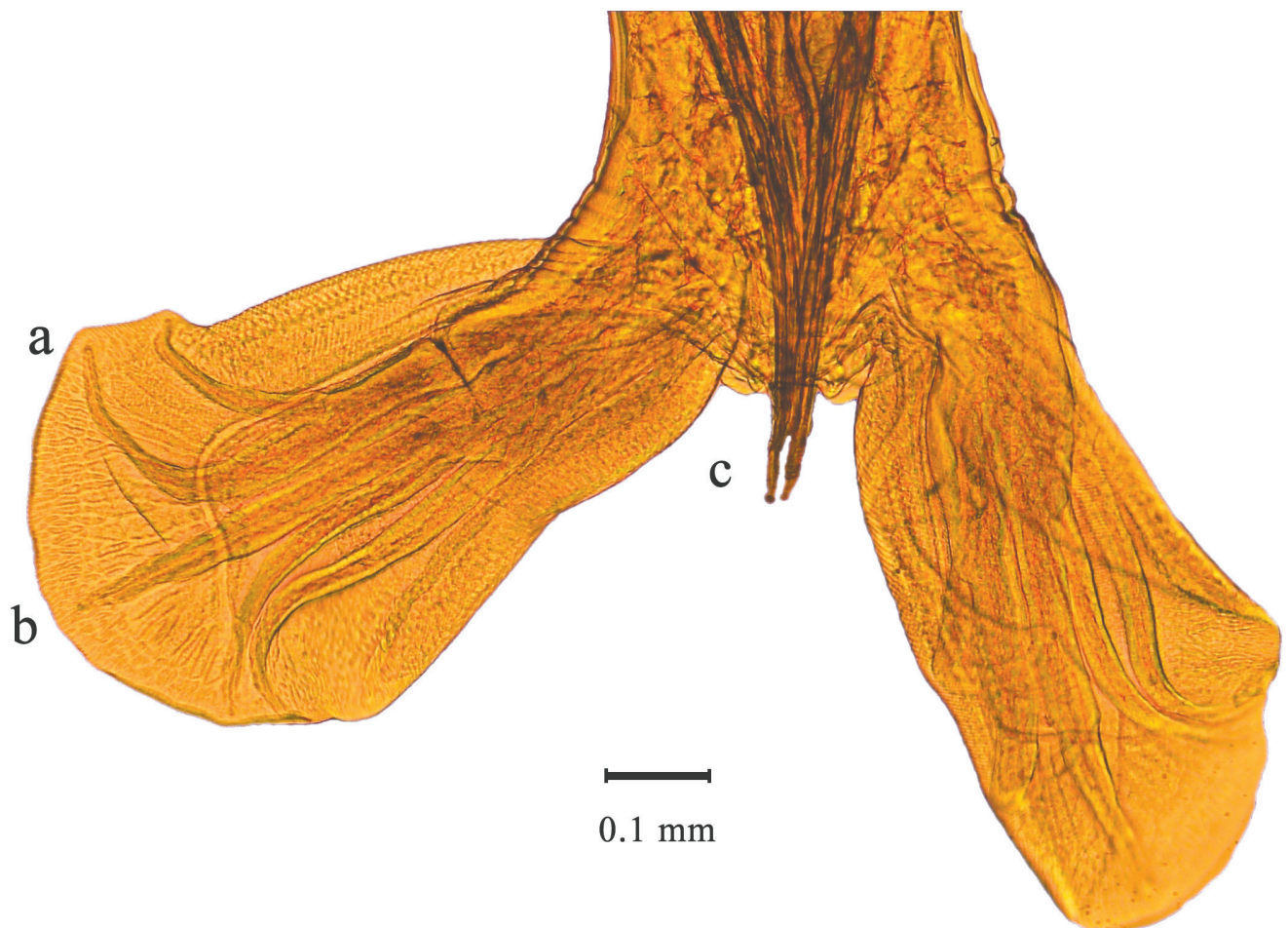
<sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

es sintetizada por los nematodos antes de cada muda y constituye una matriz extracelular altamente estructurada que actúa a modo de interfase antigénica con el hospedador. En *Haemonchus placei* (Place, 1893) la ultraestructura de la CT muestra una capa unida a la membrana, una corteza externa, una corteza interior, una matriz, tres capas de fibras y una lámina basal (Smith y Harness, 1972). La epicutícula, capa más externa, se encuentra apoyada sobre un estrato cuticular medio y éste sobre un nivel basal. Como en casi todos los nematodos, incluido los adultos y larvas de *H. contortus*, existen entre estas capas puntales situados a cada lado de las hendiduras cuticulares que forman los anillos (Eckert y Schwarz, 1965). Por entre esos pilares, que se encuentran separados por canales, circulan lípidos en forma de fluidos (Smith y Harnes, 1972, Cox et al., 1981; Fetterer y Rhoads, 1993). Los nematodos machos del género *Haemonchus* Cobb, 1898 como todos los pertenecientes al orden Strongylida, tienen la particularidad de poseer en su extremidad caudal una bolsa copulatriz o bolsa caudal (BC) formada por la cutícula, que actúa a modo de órgano sexual accesorio. En particular las BC de los Trichostrongylideos son estructuras fenotípicas de interés filogenético, taxonómico y evolutivo (Durette Desset, 1985). La BC está formada por dos lóbulos

laterales y uno dorsal sostenidos por costillas o rayos musculares que terminan en papilas sensitivas (Durette-Desset, 1985) (Fig. 1). Al microscopio óptico, entre los rayos, se observan surcos ramificados, que podrían ser compatibles con la estructura de los canales de la capa matriz de la cutícula (Cox et al., 1981) (Fig. 2). En *H. contortus*, estos conductos, por su forma y semejanza con las venas de la piel de los mamíferos, podrían denominarse “venaciones”.

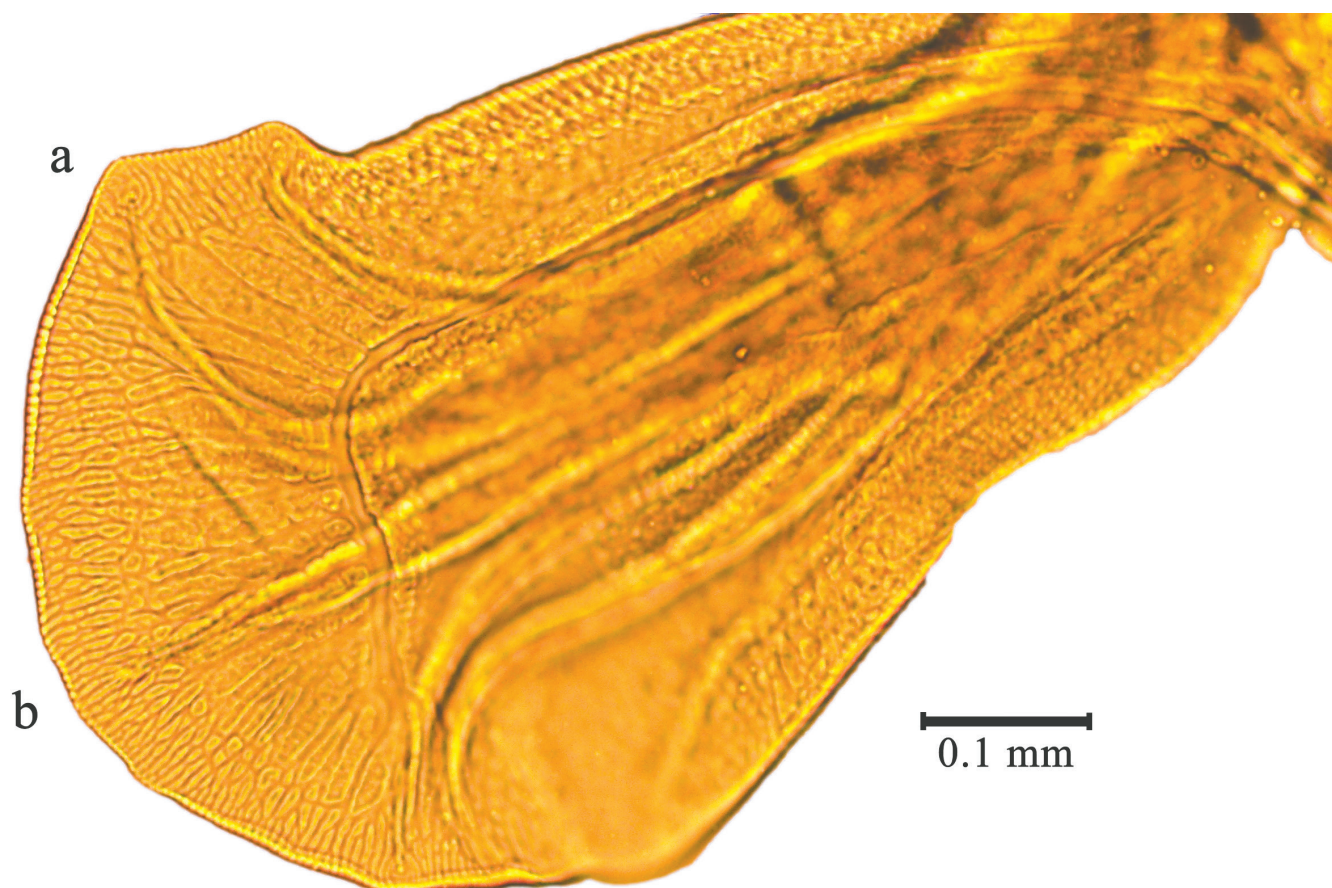
Desde el punto de vista químico, la CT presenta como composición mayoritaria, capas sucesivas compuestas de proteínas insolubles como las cuticulinas o quitinas, que están determinadas genéticamente y se encuentran ampliamente distribuidas en el Phylum Nematoda (Cox et al., 1990), así como también lípidos, islas de glicoproteínas y colágenos reticulados (Bird y Bird, 1969; Page y Johnstone, 2007). Por ello, el conocer la variabilidad de la cutícula permitiría tener una idea de las diferencias intraespecíficas de *H. contortus*, ya que ésta y la hipodermis son los órganos más importantes en el control del desarrollo del tamaño corporal del nematodo (Flemming et al., 2000).

Los Benzimidazoles (BZ) se utilizan para el control de nematodos gastrointestinales desde hace décadas (Campbell, 1990), ya que inhiben la polimerización de



**Figura 1.** Vista ventral al microscopio óptico a 100 aumentos de la bolsa copulatriz de *Haemonchus contortus*, aislamiento CEDIVE. a) Tercer rayo derecho y papila 3 derecha. b) Cuarto rayo derecho y papila 4 derecha. c) espículas.

6



**Figura 2.** Vista ventral al microscopio óptico a 200 aumentos del lóbulo derecho de la bolsa copulatrix de *H. contortus*, aislamiento CEDIVE. a) Tercer rayo derecho y papila 3 derecha. b) Cuarto rayo derecho y papila 4 derecha.

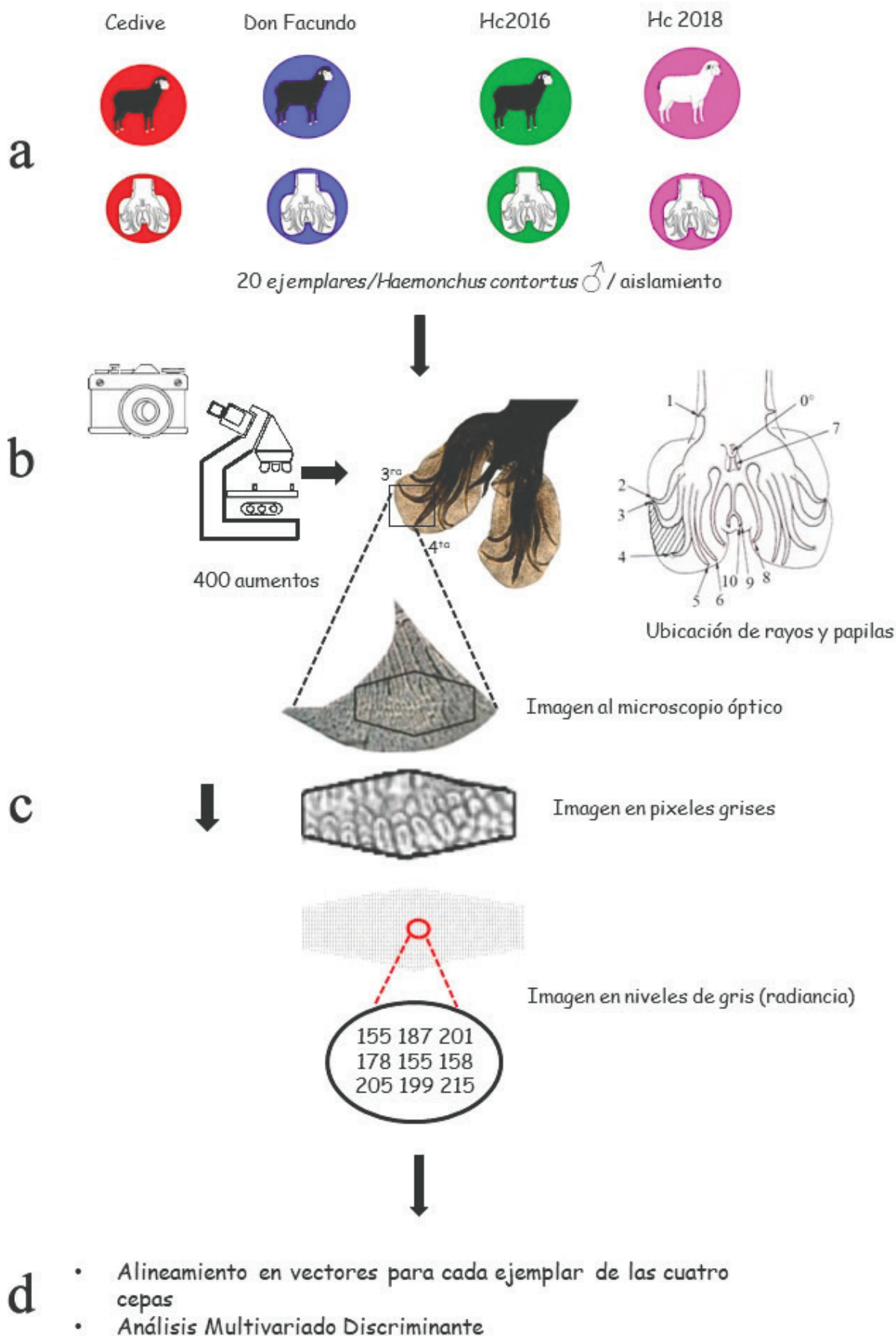
la  $\beta$  tubulina en los microtúbulos de los parásitos (Lacey, 1988, 1990). El fenómeno de la resistencia a estas drogas ha sido ampliamente descrito (Conway, 1964; Green *et al.*, 1981; Duwel *et al.*, 1987; Echevarria *et al.*, 1996). Estudios con genotipos de *H. contortus* han demostrado una correlación en el gen de isotipo 1 de la  $\beta$  tubulina en las posiciones 167, 198 y 200, de tres polimorfismos llamados polimorfismos de nucleótido único (SNP) (Kwa *et al.*, 1994; Robinson, *et al.*, 2002; Barrère *et al.*, 2013). Los parásitos susceptibles al BZ albergan, en el codón 200 del gen del isotipo 1 de la  $\beta$  tubulina, homocigotas Phe/Phe y heterocigotas Phe/Tyr, mientras que los gusanos resistentes albergan homocigotas Tyr/Tyr.

Nuestra hipótesis es que las venaciones de la BC responden a patrones comunes de subpoblaciones de *H. contortus*, por ello podrían servir como marcadores fenotípicos de atributos de aptitud ambiental o de resistencia antiparasitaria.

En este contexto, el trabajo tiene como objetivo analizar la variabilidad morfológica de las venaciones entre aislamientos y linajes de *H. contortus* resistentes y susceptibles a benzimidazoles y evaluar su potencial utilidad como marcadores fenotípicos de dichos atributos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Luego de su faena humanitaria (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, 2014), fueron colectados los nematodos de abomasos de ovinos machos de 8 - 9 meses de edad, de raza indefinida y provenientes del establecimiento Don Facundo, Curuzú Cuatiá, Corrientes, Argentina, según pautas de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (Wood, *et al.* 1995). Se utilizaron para este estudio 80 nematodos machos *H. contortus* provenientes de cuatro aislamientos: 20 procedentes de una población susceptible a benzimidazoles (población "CEDIVE"); 20 originarios de una población resistente a benzimidazoles denominada "Don Facundo"; 20 identificados como aislamiento "Hc2016", obtenido como resultado de un primer reemplazo de la población "Don Facundo" con la población "CEDIVE" susceptible; 20 identificados como aislamiento "Hc2018" obtenido como resultado de un segundo reemplazo de la población "Hc2016" con el aislamiento "CEDIVE" (Fig. 3a). La obtención de aislamientos mediante reemplazo de poblaciones resistentes por susceptibles siguió la metodología de Muchiut *et al.* (2022). Tanto al inicio como en la evolución del proceso de reemplazo de poblaciones,



**Figura 3.** Algoritmo de la metodología para el análisis de la variabilidad en las venaciones de las bolsas copulatrizes de *H. contortus*: a) Aislamientos: CEDIVE, Don Facundo, Hc2016 y Hc2018. b) Microscopía óptica a 400 aumentos, vista ventral de bolsa copulatríz; esquema de bolsa copulatríz con números señalizando los rayos; sector de análisis ubicado entre rayos 3° y 4° del lóbulo derecho. c) Imagen del recorte de venaciones al microscopio óptico; hexágono en pixeles en escala de grises con valores de radiancia. d) Análisis Multivariado Discriminante.

**Tabla 1. Caracterizaciones fenotípicas por susceptibilidad a Benzimidazoles y genotípica para el gen del isotipo 1 de  $\beta$  tubulina. TRCH: Test de reducción de la cuenta de huevos. TEC: Test de Eficacia Controlada. S/D: Sin datos.**

Aislamiento	TRCH	TEC	Tyr/Tyr (Susceptible)	Phe/Tyr (Resistente)	Phe/Phe (Resistente)
Don Facundo	62,5 % <sup>(1)</sup>	64,5 % <sup>(1)</sup>	15,3 % <sup>(1)</sup>	46,2 % <sup>(1)</sup>	38,5 % <sup>(1)</sup>
CEDIVE	100 % <sup>(2)</sup>	100 % <sup>(2)</sup>	86,7 % <sup>(1)</sup>	13,3 % <sup>(1)</sup>	(-)
Hc2016	86,8 % <sup>(1)</sup>	83,2 % <sup>(1)</sup>	20 % <sup>(1)</sup>	60 % <sup>(1)</sup>	20 % <sup>(1)</sup>
Hc2018	92,3 % <sup>(1)</sup>	89,6 % <sup>(1)</sup>	S/D	S/D	S/D

(1) Pruzzo, C, (datos no publicados)

(2) Según Guzmán (2014)

todos los aislamientos fueron caracterizados por pruebas de campo y pruebas moleculares (Guzmán, 2014; Pruzzo, datos no publicados). Las primeras consistieron en: Test de reducción de la cuenta de huevos - TRCH - y Test de eficacia controlada por necropsia -TEC - (según Coles *et al.*, 1992). Las segundas se efectuaron por medio de las técnicas de Sistema de Mutación Refractario a la Amplificación por PCR (ARMS\_PCR) para detectar mutaciones del isótopo 1 de  $\beta$  tubulina (SNP 200). La caracterización de resistencia o susceptibilidad de los cuatro aislamientos por pruebas de campo o moleculares puede verse en la Tabla 1.

### Biometría de las Venaciones

Las BC de cada nematodo fueron diseccionadas con hoja de afeitar y montadas en portaobjetos para observarlas en vista ventral al microscopio óptico (MO). Luego de la diafanización con una solución de lactofenol (2 partes de glicerina, 1 parte de fenol, 1 parte de ácido láctico y 1 parte de agua) las BC fueron fotografiadas con el sistema color RGB (R: 1.08, G: 1, B: 1.38) bajo MO con 400 aumentos, mediante cámara digital Leica MC 170 HD en formato TIF, con iguales patrones de frecuencia (50 Hz), saturación (209), contraste (100) y gama (0.88). La imagen de las venaciones se tomó en el área comprendida por un cuadrado ubicado entre el tercer y el cuarto rayo del lóbulo derecho (Fig. 3b). Para estudiar la variabilidad y singularidades de las venaciones entre las poblaciones se realizó, en varias etapas, un análisis biométrico por medio de un procesamiento numérico de las imágenes digitales. Con cada imagen digital se practicaron los siguientes pasos: (1) mediante software de edición gráfica se recortaron las imágenes en forma hexagonal con dimensiones de 75 píxeles de ancho por 40 píxeles de alto, obteniéndose un recorte del cuadrado anterior de 3.000 píxeles (Fig. 3c), (2) se ubicaron todos los recortes a un ángulo de 0° con el horizonte, (3) se ajustaron a una resolución de 100 píxeles por pulgada, (4) mediante software MultiSpec 3.1, para cada nematodo, se obtuvieron

40 vectores de radiancia, en valores de píxeles para escala de grises, entre 0 para el negro y 255 para el blanco (Fig. 3c), y (5) con estos vectores se generaron las medias aritméticas de cada una de las 40 líneas de píxeles de cada nematodo que en la siguiente etapa fueron alineadas para cada ejemplar. Luego del paso anterior, la morfología y el recorrido de las venaciones en la BC de cada uno de los nematodos, quedó tipificada en una matriz individual de valores en píxeles de escala de grises. Considerando a las 40 líneas de valores en píxeles de escala de grises como efectoras de fenotipos, conformados por cada una de ellas como covariables aleatorias y considerando a los aislamientos como categorías, se contrastaron los fenotipos de las venaciones de los 80 nematodos -20 por cada aislamiento- por medio de Análisis Multivariado Discriminante (AMD) con el programa JMP 5.1 (Fig. 3d). Con el fin de identificar variables que expliquen singularidades en las venaciones de la BC, el AMD se corrió mediante la opción de Selección de variables paso a paso (*Stepwise variable selection*).

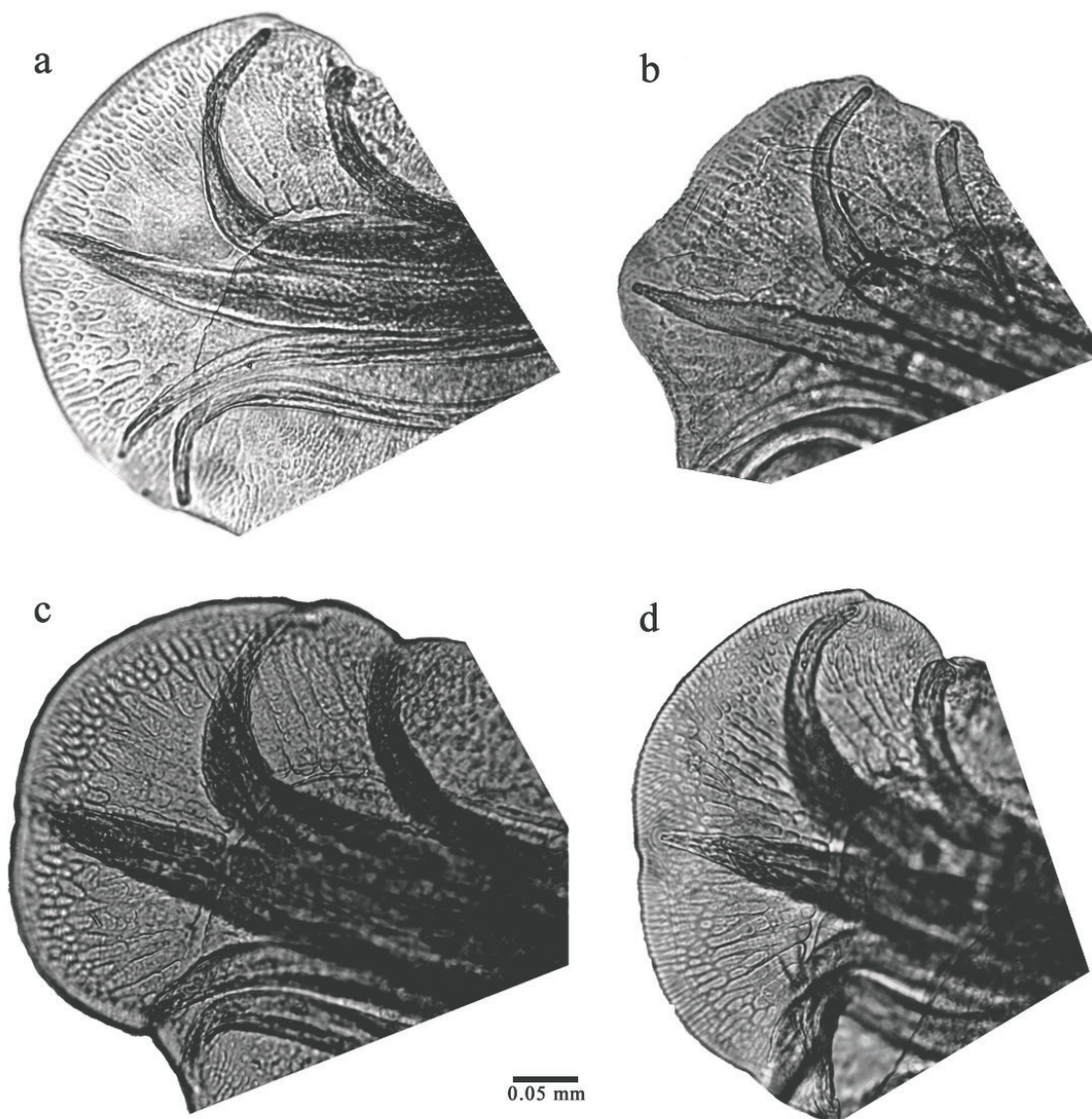
### RESULTADOS

A partir del análisis biométrico, por medio del procesamiento en píxeles de escala de grises de las imágenes digitales, se obtuvo el fenotipo de las venaciones de las BC de las cuatro poblaciones de *H. contortus* (Fig. 4). Como muestran el gráfico canónico (Fig. 5), la Tabla de Puntuaciones Discriminantes ([Anexo Fig. 6](#)) y los resultados de la fórmula de Predicción, el AMD de las venaciones clasificó bien al 95% (76/80) del total de individuos en las cuatro poblaciones. Mientras que, para cada aislamiento, por medio de la siguiente ecuación discriminante:

$$ED = 1,797693135e308. \text{ Probabilidad (A). Probabilidad (B). Probabilidad (C). Probabilidad (D),}$$

el AMD discriminó el 95% (19/20), 100 % (20/20), 100 % (20/20) y 85% (17/20) de los orígenes CEDIVE, Don Facundo, Hc2016 y Hc2018 respectivamente.

Los resultados del AMD mostraron un incipiente



**Figura 4.** Vista ventral al microscopio óptico a 400 aumentos del lóbulo derecho de las bolsas copulatrices de *H. contortus* de las cuatro poblaciones. a) Aislamiento CEDIVE. b) Aislamiento Don Facundo. c) Aislamiento Hc2016. d). Aislamiento Hc2018.

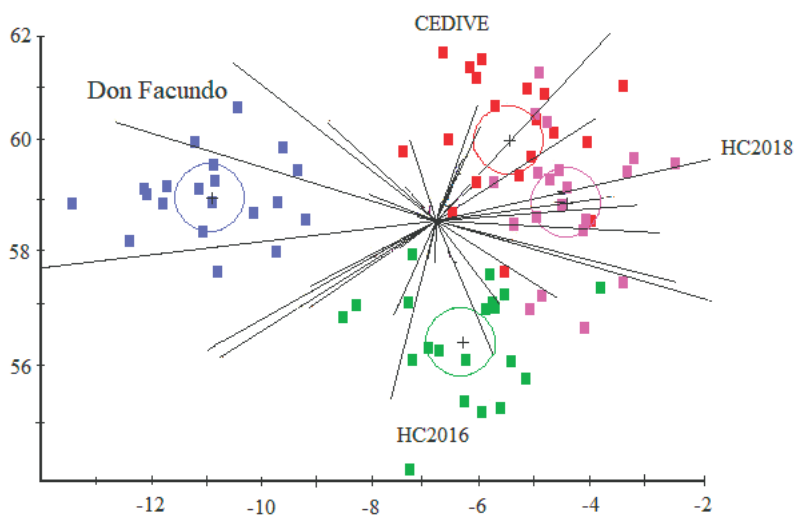
grado de coherencia con la evolución del proceso de reemplazo de la población Don Facundo, resistente a benzimidazoles, por el aislamiento CEDIVE, susceptible a benzimidazoles. En ese sentido se puede apreciar que la primera población de recambio Hc2016 tuvo su propia singularidad en la morfología de las venaciones comparada con las otras poblaciones, diferenciándose totalmente de su aislamiento de origen (Don Facundo). En cambio, la población Hc2018 derivada de Hc2016 tuvo tres individuos mal clasificados dentro de su aislamiento, que se parecieron más en las venaciones de la BC a la población CEDIVE (Figs. 5, 6).

El análisis del AMD por medio de la opción de Selección paso a paso (*Stepwise variable selection*) de cada una de las 40 variables, visibilizadas a través de las líneas de valores en pixeles de escala de grises, no identificó ninguna variable en particular o zona de las venaciones que tuviera mayor capacidad discriminante que otras para separar los aislamientos.

## DISCUSIÓN

El resultado obtenido luego del AMD de las venaciones en las cuatro poblaciones se podría vincular con el carácter evolutivo de la morfología bursal y el synlopho en los Trichostrongyloidea, dentro de los cuales se encuentra la familia Haemonchidae (Durette- Desset, 1985). Si bien aún es compleja la diagnosis por asociación entre morfología y marcadores moleculares en *H. contortus* (Dorris *et al.*, 1999; Ndosí *et al.*, 2023), caracteres como el largo total, la longitud del esófago, el número de crestas cuticulares y su proporción con respecto al cuerpo, se mencionan como diferencias morfológicas significativas que distinguen a las especies de *Haemonchus* (Zarlenga *et al.*, 2016).

En el sentido morfológico, se podrían homologar las diferencias aquí observadas con los cambios hallados por Freeman *et al.* (2003) en los cilios sensoriales de los anfidios de poblaciones de *H. contortus*



**Figura 5.** Gráfico canónico de Análisis Multivariado Discriminante en las venaciones de las bolsas copulatrices de *H. contortus*. Referencias: Don Facundo ■ CEDIVE ■ HC16 ■ HC18 ■

resistentes a ivermectina, en un estudio que reveló que los nematodos resistentes a la ivermectina tenían cilios más cortos que sus contrapartes parentales susceptibles. Por otro lado, en el sentido de analizar diferencias entre aislamientos genéticamente divergentes, Sargison *et al.* (2019) observaron que ciertos caracteres morfológicos de *H. contortus*, como el largo de las espículas y los esófagos de los machos en poblaciones susceptibles y resistentes a antihelmínticos (lactonas macrocíclicas, benzimidazoles y salicylanilidas), mostraban una incipiente especiación.

Los resultados de este trabajo permiten concluir acerca de la singularidad en la morfología de las venaciones bursales de *H. contortus* entre las poblaciones analizadas: aislamiento Don Facundo -Resistente a BZ- y aislamiento CEDIVE-Susceptible a BZ, como de los aislamientos Hc2016 y Hc2018, producto de protocolos de reemplazo. Por ello, y si bien sería deseable aumentar el número de poblaciones estudiadas, analizar el fenotipo de *H. contortus* con esta metodología parece ser una herramienta útil que permitiría identificar poblaciones con distintos atributos, entre ellos la resistencia de este nematodo a los benzimidazoles.

#### AGRADECIMIENTOS

Al propietario y empleados del establecimiento Don Facundo, por abrir sus puertas para realizar el trabajo de reemplazo de poblaciones y obtención de los ejemplares de *H. contortus*.

#### LITERATURA CITADA

Barrère, V., Falzon, L. C. y Shakya, K. P. (2013). Assessment of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* in sheep flocks in Ontario, Canada: comparison of detection methods for drug resistance. *Veterinary Parasitology*, 198, 159-165.

Bird, F. y Bird, J. (1969). Skeletal Structures and Integument of Acanthocephala and Nematoda. En M. Florkin y B. T. Scheer (Eds.). *Chemical Zoology: Echinodermata, Nematoda, and Acanthocephala* (253-286). Amsterdam: Academic Press.

Campbell, W.C. (1990). Benzimidazoles: veterinary uses. *Parasitology Today*, 6, 130-133.

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. y 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.

Conway, D. P. (1964). Variance in effectiveness of thiabendazole against *Haemonchus contortus* in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 25, 844-845.

Cox, G. N., Kusch, M. y Edgar, R. S. (1981). Cuticle of *Caenorhabditis elegans*: its isolation and partial characterisation. *The Journal of Cell Biology*, 90, 7-17.

Cox, G. N., Shamansky, L. M. y Boisvenue, R. J. (1990). *Haemonchus contortus*: evidence that the 3A3 collagen gene is a member of an evolutionary conserved family of nematode cuticle collagens. *Experimental Parasitology*, 70, 175-185.

Dorris, M. P., Ley, D. y Blaxter, M. L. (1999). Molecular Analysis of Nematode Diversity and the Evolution of Parasitism. *Parasitology Today*, 15, 188-193.

Durette-Desset, M. C. (1985). Trichostrongyloid Nematodes and Their Vertebrate Hosts: Reconstruction of the Phylogeny of a Parasitic Group. *Advances in Parasitology*, 24, 239-303.

Düwel, D., Schmid, K. y Bechmann, G. (1987). Benzimidazole-resistant *Haemonchus contortus* in sheep in West Germany. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 100, 120-123.

Echevarria, F., Borba, M. F. S., Pinheiro, A. C., Waller, P. J. y Hansen, J. W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasite of sheep in Southern

- Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology*, 62, 199–206.
- Eckert, J. y Schwarz, R. (1965). Zur Struktur der Cuticula invasionsfähiger Larven einiger Nematoden. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 26, 116-142.
- Emery, D. L., Hunt, P. W. y Le Jambre, L. F. (2016). *Haemonchus contortus*: ¿the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology*, 46, 755-769.
- Fetterer, R. y Rhoads, M. (1993). Biochemistry of the nematode cuticle: relevance to parasitic nematodes of livestock. *Veterinary Parasitology*, 46, 103-111.
- Flemming, A. J., Shen, Z. Z., Cunha, A., Emmons, S. W. y Leroi, A.M. (2000). Somatic polyploidization and cellular proliferation drive body size evolution in nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 5285-5290.
- Freeman, A. S., Nghiem, C., Li, J., Ashton, F. T., Guerrero, J., Shoop, W. L. y Schad, G. A. (2003). Amphidial structure of ivermectin-resistant and susceptible laboratory and field strains of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 110, 217-226.
- Giudici, C. J. (1999). Correspondances entre les variabilités morphologique et écologique chez le Nématode *Haemonchus placei*, parasite de bovins. Tesis doctoral. Université François Rabelais. France.
- Giudici, C.J., Durette-Desset, M. C., Cabaret, J. (1999). Description of *Haemonchus placei* (Place, 1893) Nematoda, Trichostrongyloidea, Haemonchidae, identification and intra-specific morphologic variability. *Parasite* 6, 333-342.
- Green, P. E., Forsyth, B. A., Rowan, K. J. y Payne, G. (1981). The isolation of a field strain of *Haemonchus contortus* in Queensland showing multiple anthelmintic resistances. *Australian Veterinary Journal*, 57, 79-84.
- 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 benzimidazoles Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Kwa, M. S. G., Veenstra, J. G. y Roos, M. H. (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in  $\beta$  tubulin isotype 1. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 63, 299-303.
- Lacey, E. (1988). The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology*, 18, 885-936.
- Lacey, E. (1990). Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*, 6, 112-115.
- Lanusse, C. E., Alvarez, L. I. y Lifschitz, A. L. (2016). Gaining Insights Into the Pharmacology of Anthelmintics Using *Haemonchus contortus* as a Model Nematode. *Advances in Parasitology*, 93, 465-518.
- Ndosi, B.A., Lee, D., Bia, M.M., Yang, H., Hong, M.J., Seo, S., Park, H. y Eom, K.S. (2023) Morphometry and Molecular Identification of *Haemonchus Cobb*, 1898 (Trichostrongylidae: Nematoda) Isolates from Small Ruminants in Tanzania Based on Mitochondrial *cox 1* and rRNAITS genes. *Journal of Parasitology Research*, 1-10.
- Page, A. P. y Johnstone, I. J. (2007). The cuticle. En Kramer, J. M. y Moerman, D. G. (Eds.). *Wormbook*. The *C. elegans* Research Community. Recuperado en: <http://www.wormbook.org>. Último acceso 7 de mayo 2023.
- Robinson, M., Trudgett, A., Fairweather, I. y McFerran, N. (2002). Benzimidazole binding to *Haemonchus contortus* tubulin: a question of structure. *Trends in Parasitology* 18, 153-154.
- Sargison, N. D.; Redman, E.; Morrison, A.A.; Bartley, D.J.; Jackson, F.; Hoberg, E.; Gilleard, J.S. (2019) Mating barriers between genetically divergent strains of the parasitic nematode *Haemonchus contortus* suggest incipient speciation. *International Journal for Parasitology* 49: 531-540.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2014. Resolución N° 46/2014. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/normativa/recurso/24788/dn4238-1968cap32/htm>.
- Smith, K. y Harness, E. (1972). The ultrastructure of the adult stage of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus placei*. *Parasitology*, 64, 173-179.
- 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. y Vercruyse, J. (1995) World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) *Veterinary Parasitology*, 58, 181-213.
- Zarlenga, D. S., Hoberg, E. P. y Tuo, W. (2016). The Identification of *Haemonchus* Species and Diagnosis of Haemonchosis. En: *Haemonchus contortus* and Haemonchosis - Past, Present and Future Trends. *Advances in Parasitology*, 93, 145-80.

---

Recibido: 18 de mayo de 2023

Aceptado: 5 de marzo de 2024

---