



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EVALUACIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA EN
EQUINOS EN URUGUAY**

Dra. Adriana Drocco Isolini

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY

2012



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EVALUACIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA EN
EQUINOS EN URUGUAY**

Dra. Adriana Drocco Isolini

Dr. Álvaro Freyre
Director de Tesis

Dr. Darío Falcón
Co-director

2012

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE
DEFENSA DE TESIS**

**Perla Cabrera; DMV
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República – Uruguay**

**Armando Nari; DMV, MSc
Departamento de Parasitología, DILAVE
Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca - Uruguay**

**Daniel Castells; DMV, MSc
Secretariado Uruguayo de la lana (SUL)- Uruguay**

2012

COPIA DEL
ACTA DE DEFENSA DE TESIS

Informe del Tribunal

Agradecimientos

“La vida tiene sus asuntos y sus ritmos, sin dejar de ser el sueño que soñamos”.

Joan Garriga

Quiero agradecer a mi tutor Dr. Álvaro Freyre y co-tutor Dr. Darío Falcón por su guía y por el tiempo dedicado. A Laboratorios Santa Elena por apoyarme para realizar la maestría, a Laboratorios Merial e Intervet por colaborar con los productos, al personal de los establecimientos por su colaboración, a la Dra. María Salazar y Dr. Milton Cattáneo por su ayuda en el trabajo de laboratorio y de campo, a Óscar Correa por sus aportes, a Matilde Acuña por su ayuda con la presentación. A mi familia por estar siempre y a mis amigas Pilar, M^a José, Rita, Irene y Sabrina por darme ánimo para terminar este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	vi
SUMMARY	vii
INTRODUCCIÓN	1
Importancia de la especie equina en Uruguay	1
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	2
Principales parásitos de los equinos	2
Ciclo biológico de los ciatostominos	10
Epidemiología de los pequeños estrogilidos	11
Patogenia de los pequeños estrogilidos– Ciatostominosis larval	13
Inmunidad.....	13
Control de las parasitosis de los equinos	15
El problema de la resistencia antihelmíntica	21
OBJETIVOS	29
Objetivo general	29
Objetivos particulares	29
Hipótesis de trabajo.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
Diseño experimental.....	30
Selección de establecimientos y animales	30

Determinación de la resistencia antihelmíntica	33
RESULTADOS.....	40
Distribución de hpg en los equinos.....	40
Distribución de hpg por establecimiento.....	41
Distribución de hpg según la edad de los equinos estudiados.....	47
Identificación de huevos y cultivos de larvas.....	49
Resistencia antihelmíntica.....	50
DISCUSIÓN	56
Punto de inflexión para la dosificación antihelmíntica	56
Distribución de hpg en los equinos investigados.....	56
Distribución de hpg según la edad de los equinos	57
Géneros parasitarios presentes en los equinos investigados.....	58
Presencia de resistencia antihelmíntica	59
TRCH en equinos: criterios para analizar los datos	62
Recomendaciones para el control de parásitos gastrointestinales en equinos.....	63
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
Anexo I.....	73
Anexo II.....	96

Índice de figuras

Figura 1. <i>Parascaris equorum</i> adultos	4
Figura 2. <i>Anoplocephala perfoliata</i>	5
Figura 3. <i>Oxyuris equi</i>	6
Figura 4. Larvas de <i>Gasterophilus</i> sp	7
Figura 5. <i>Strongylus</i> spp. sobre mucosa de intestino	9
Figura 6. Mucosa de intestino grueso con presencia de nódulos y ciatostominos adultos.....	10
Figura 7. Ubicación geográfica de los establecimientos participantes del estudio en el Uruguay.	31
Figura 8. Procedimiento del cultivo de larvas.....	37
Figura 9. Distribución de hpg en el total de equinos muestreados pre tratamiento.	40
Figura 10. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 1	41
Figura 11. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 2	42
Figura 12. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 3	43
Figura 13. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 4	43
Figura 14. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 5	44
Figura 15. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 6	45
Figura 16. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 7	45
Figura 17. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 8	46
Figura 18. Promedio de los conteos hpg según la edad de los equinos	47

Figura 19. Distribución de hpg en 42 equinos de 5 años o más.	48
--	----

Índice de cuadros

Cuadro I. Familia, espectro de acción y dosis recomendada de los antihelmínticos usados en equinos en el mundo.	17
Cuadro II. Estudios de resistencia de pequeños estrongilidos a los bencimidazoles similares al presente, encontrados en establecimientos de diferentes países.....	23
Cuadro III. Raza y propósito de los equinos, manejo de los animales y programas antiparasitarios de los 8 establecimientos participantes del ensayo.	32
Cuadro IV. Datos de las drogas utilizadas en los grupos tratados.....	38
Cuadro V. Presencia de huevos de tipo no estrongilido en equinos en cada establecimiento.	49
Cuadro VI. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 1	51
Cuadro VII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 2	51
Cuadro VIII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 3	52
Cuadro IX. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 4	52
Cuadro X. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 5	53
Cuadro XI. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada	

grupo en el establecimiento 653

Cuadro XII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 754

Cuadro XIII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 854

RESUMEN

Los pequeños estróngilidos o ciatostominos son los parásitos más prevalentes en equinos de todas las edades en todo el mundo. Pueden causar serios trastornos como diarrea, cólico, deshidratación e inclusive la muerte. La resistencia antihelmíntica de este género a los bencimidazoles es un fenómeno bien conocido a nivel mundial. En Uruguay esta situación se describió solamente en un establecimiento, en un trabajo publicado en 1995. La resistencia de los ciatostominos al pirantel se ha registrado en varios países y recientemente se determinó la disminución en la eficacia de la ivermectina en Brasil, EE.UU y Alemania. Los objetivos principales del presente trabajo fueron evaluar la presencia de resistencia antihelmíntica en nematodos de equinos e identificar el género parasitario predominante en equinos de diferentes establecimientos del Uruguay. **Se evaluó la presencia de resistencia antihelmíntica en 248 equinos utilizando el test de reducción de conteo de huevos.** Se obtuvieron muestras de materia fecal de un total de 318 caballos, parasitados naturalmente, de diferentes edades, sexos y razas, pertenecientes a 8 establecimientos de diferentes zonas del Uruguay. En cada establecimiento se seleccionaron los equinos que presentaran más de 150 huevos por gramo de materia fecal (hpg) repre. Se distribuyeron los animales seleccionados en 4 grupos de 6 a 10 equinos por establecimiento. Tres grupos fueron tratados oralmente con fenbendazol, ivermectina y pamoato de pirantel. Un grupo control permaneció sin tratamiento. Se realizaron conteos de hpg pre tratamiento y 14 días posteriores al mismo mediante la técnica de McMaster modificada. También se realizaron cultivos de larvas pre y post tratamiento. Los pequeños estróngilidos fueron los parásitos predominantes en todos los equinos que participaron en esta prueba. En los 8 establecimientos se constató la presencia de ciatostominos resistentes al fenbendazol, con valores de reducción en el conteo de huevos entre 0 y 37%. En los cultivos de larvas realizados luego del tratamiento con fenbendazol solo se identificaron larvas de pequeños estróngilidos. La ivermectina y pirantel fueron eficaces en todos los establecimientos con valores de reducción en el conteo de huevos entre 99 y 100% y 92 y 100%, respectivamente. Esta es la segunda comunicación sobre la presencia de resistencia de los pequeños estróngilidos a un bencimidazol en Uruguay y es el primer estudio que se realiza diferentes establecimientos del Uruguay. Se corroboró que los ciatostominos son los parásitos predominantes en equinos de todas las edades. El nuevo conocimiento logrado, es de utilidad para la formulación de programas de control antihelmíntico en equinos en Uruguay.

SUMMARY

Small strongyles or cyathostomins are the most prevalent parasites in horses of all ages and can cause severe disease like diarrhoea, colics, dehydration and even death. Resistance of these parasites to becimidazoles is well known all around the world. In Uruguay this situation was described in only one farm, in a study published in 1995. Anthelmintic resistance of ciathostomins to pirantel has been observed in many countries and recently, decreased efficacy of ivermectin was reported in one farm in Brazil, USA and in Germany. The objectives of this work were to evaluate the presence of anthelmintic resistance in nematodes of horses and to identify the most prevalent parasite genus in horses of different farms in Uruguay. **The presence of anthelmintic resistance was evaluated in 248 horses by the fecal egg count reduction test (FECRT).** Faeces of 318 horses of different breeds, sexes and ages from 8 farms of Uruguay were studied. In each farm horses with more than 150 eggs per gram (epg) were selected and randomly assigned to 4 equal groups of 6 to 10 animals. Three of these groups were treated orally with fenbendazol, Ivermectin and pyrantel pamoate. one control group was not medicated. Individual fecal samples were collected pre-treatment and 14 days after treatment and processed by a modified Mc Master technique. Additionally larval cultures were performed before and after treatment. Only cyathostomins were identified in pre and post treatment larval cultures. Resistance of small strongyles to fenbendazol was present in all farms, with 0 to 37% of reduction of the fecal egg count. Ivermectin and pyrantel pamoate showed 99-100% and 92-100% efficacy respectively, in all farms surveyed. This is the second diagnostic of small strongyles resistant to a becimidazol in Uruguay and the first wide survey of anthelmintic resistance in horses reported in Uruguay. Results indicate that resistance of ciathostomins to a bencimidazol is present and widespread in Uruguay and corroborate that small strongyles is the most prevalent group in the country. The new knowledge achieved can be used in the planning of control measures against horse helminth.

INTRODUCCIÓN

Importancia de la especie equina en Uruguay

Actualmente existen aproximadamente 400 mil equinos en Uruguay (Uruguay XXI). Es bien conocida la importancia de esta especie en las tareas rurales, pero además, las actividades deportivas y de recreación que involucran caballos tiene una larga tradición en nuestro país, por ejemplo los raids, carreras de caballos Pura sangre, polo, endurance, equitación, etc. Por otro lado, en el 2010 se exportaron 5.558 toneladas de carne equina lo que representó un total de U\$S 21.697.034 (91,55% del total de las exportaciones). En 2011 se faenaron 39.867 equinos (INAC 2011).

Todas esas actividades generan muchas fuentes de trabajo para los uruguayos y representan importantes ganancias. Sin embargo existe muy poca investigación científica sobre equinos en Uruguay. En lo referente a las parasitosis, son escasos los trabajos realizados sobre epidemiología y prevalencia de parásitos en equinos en Uruguay (Falcón 2002) y en la región (Fusé et al. 2002; Lamberti et al. 2008). No ocurre lo mismo con las especies de importancia productiva como bovinos y ovinos, para los cuales existe abundante información relacionada a esta temática.

Para que los equinos tengan la mejor performance posible en las actividades antes mencionadas es necesario que presenten un excelente estado sanitario. Esto incluye el control parasitario. Para ello es imprescindible conocer todos los aspectos relacionados con los parásitos que nos permitan diseñar estrategias de control adecuadas para cada situación. Ello incluye no sólo la epidemiología y prevalencia de los parásitos, sino también la situación de resistencia a las principales drogas antihelmínticas. Sobre esto último, existe solamente un trabajo publicado en Uruguay (Castells 1995). Según Monahan (2002) la memorización rutinaria de calendarios de tratamientos y drogas antiparasitarias sin entender la biología de los parásitos a ser controlados concede una ventaja intelectual a los parásitos.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

La infestación por nematodos está presente en todos los equinos que pastan, usualmente con infestaciones repetidas a lo largo de su vida. Los parásitos gastrointestinales continúan siendo un importante problema en la salud de los equinos, pero debido a la fuerte presión ejercida por los tratamientos antiparasitarios, la prevalencia y la importancia de los diferentes géneros parasitarios se ha modificado en los últimos 20 años (Murray 2003).

Los problemas parasitarios más frecuentes son causados por *Parascaris equorum* y *Strongyloides westeri* en potrillos, y en adultos por ciatostominos o pequeños estrongilidos principalmente, y en menor medida por grandes estrongilidos (*Strongylus* sp), *Anoplocephala perfoliata* y *Gasterophilus* sp. (Bowman et al. 2004).

Unas décadas atrás los grandes estrongilidos eran los parásitos más prevalentes. *Strongylus vulgaris* se consideraba el más importante, desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Esta situación ha cambiado desde la aparición de antihelmínticos muy eficaces y de amplio espectro en la década de los 60. Hoy en día los ciatostominos o pequeños estrongilidos son el grupo de parásitos más prevalentes según la mayoría de los estudios publicados, en tanto que los grandes estrongilidos no son encontrados o aparecen en contadas oportunidades (Bowman et al. 2004; von Samson-Himmelstjerna 2011).

Principales parásitos de los equinos

Strongyloides westeri Ihle 1918, (orden Rhabditida, familia Strongyloididae)

Es el género que afecta a los equinos a más temprana edad. Se pueden hallar huevos de este género en materia fecal en potrillos de 14 días de nacidos. Los estrongiloides son nematodos de 2 a 9 mm de largo que parasitan el intestino delgado. El modo de infección es percutáneo a través de la ingestión de larvas infectantes o por vía lactogénica, dado que las larvas permanecen arrestadas en las glándulas mamarias de la yegua y se movilizan en el momento de la lactancia. Esto explica la presencia de la parasitosis en animales muy jóvenes. Los potrillos recién nacidos pueden presentar, a partir del noveno día, diarrea abundante de color verdoso, que puede acompañarse de deshidratación, adelgazamiento y culmina en la muerte. Debido a su ingreso por la piel pueden generar dermatitis de gravedad relativa. La actividad de las larvas durante su migración provoca daño en el tejido pulmonar, con hemorragias, pudiendo causar una neumonía, o simplemente tos, disnea y catarro nasal (Bowman et al. 2004;

Castaño 2005, revisado por Gómez et al. 2010).

Parascaris equorum Goeze 1782, (Orden Ascaridida familia Ascarididae)

Esta especie se localiza en el intestino delgado y afecta principalmente a los potrillos de menos de 2 años. Este nematodo muestra tres labios gruesos que se estrangulan por detrás. Los machos miden 6-28 cm y son incurvados y las hembras miden 6-38 cm. El desarrollo de cierta inmunidad en equinos adultos impide una infestación masiva de estos parásitos. En los potrillos pueden encontrarse gran cantidad de ejemplares de varios tamaños. En esta categoría puede ocurrir un retraso del crecimiento y en algunos casos obstrucción y eventual ruptura de la pared intestinal. Las hembras llegan a poner hasta 200.000 huevos por día. Estos huevos son larvados, se eliminan a través de las heces y son extremadamente resistentes en el medio exterior debido a que están protegidos por una gruesa cubierta externa. Cuando se ingieren los huevos conteniendo la larva, estos eclosionan en el intestino, y la larva atraviesa la pared intestinal e ingresa a la circulación portal. Luego de un periodo en el hígado, las larvas utilizan la vía sanguínea y linfática para llegar a los pulmones, donde se las encuentra ya como larva de cuarto estadio. Estas larvas ascienden por el árbol bronquial y descienden al tubo digestivo, para madurar definitivamente. El periodo de prepatencia es de 44 a 81 días. Las larvas migratorias pueden causar signos respiratorios variables desde un simple resfrío hasta una bronconeumonía. Típicamente los equinos con ascaridiosis están mal nutridos, son de poca talla y enfermizos, tienen pelaje áspero, piel seca y abdomen distendido. Los parásitos adultos generan una enteritis catarral crónica, que clínicamente se manifiesta con apetito variable y cólico recurrente. En muchos casos puede ocurrir una oclusión intestinal (Bowman et al. 2004; Castaño 2005, revisado por Gómez et al. 2010)



Figura 1. *Parascaris equorum* adultos

(Fuente: <http://cniia.inta.gov.ar/helminto/confe05/fig6.htm>)

Anoplocephala spp. (clase Cestoda, orden Cyclophyllidea, familia Anoplocephalidae): *A. perfoliata* Goeze 1782, también pueden presentarse *A. magna* y *Paranoplocephala mamillana*.

A. perfoliata es el cestodo más frecuente, mide alrededor de 25 cm, se ubica en íleon, válvula ileocecal y ciego (figura 2). Muestra un escólex de 2-3 mm de diámetro con cuatro ventosas lobuladas. Los proglotidos son más anchos que largos. Su ciclo de vida es indirecto y requiere de la presencia de huéspedes intermediarios. Ellos son los ácaros de vida libre de la familia *Oribatidae*. Los cestodos adultos eliminan proglótidos grávidos al medio ambiente junto con la materia fecal, en la cual pueden permanecer como tal o desintegrarse, liberando los huevos contenidos en su interior. Los huevos pueden ser ingeridos por varios géneros de ácaros oribátidos en los cuales desarrollan a la forma juvenil (cisticercoide). Los equinos adquieren la parasitosis cuando, al alimentarse de las pasturas, ingieren los ácaros con el cisticercoide en su interior. El período prepatente es de 6 a 8 semanas (Bowman et al. 2004) .

Con respecto a la patogenicidad de los cestodes de equinos, existe una relación significativa entre la cantidad de parásitos y la severidad de las lesiones. Los cambios macroscópicos observados en la mucosa intestinal con baja carga de parásitos se limitan a congestiones superficiales o ulceraciones en el lugar de fijación. Las altas cargas pueden provocar úlceras en la mucosa, e inflamación y engrosamiento de la pared intestinal. Estos cambios patológicos predisponen a diarrea persistente y pueden provocar intususcepción del íleon en el ciego, o la ruptura de la pared intestinal cerca de la válvula ileocecal. Se ha relacionado a este parásito con cólico ileocecal en los equinos (Bowman et al. 2004; Matthews et al. 2004,

Castaño 2005, revisado por Gómez et al. 2010).



Figura 2. *Anoplocephala perfoliata*
(Fuente: <http://cniia.inta.gov.ar/helminto/confe05/fig8.htm>)

Oxyuris equi Schrank 1978 (orden Ascaridida, familia Oxyuridae)

Los oxiuros se encuentran en el intestino grueso y recto en caballos de todas las edades. No resultan mayormente dañinos para el animal. Los machos miden de 0,9 a 1,9 cm y las hembras de 4 a 18 cm con una cola aguzada, dos a cinco veces más larga que su cuerpo (figura 3). Esta parasitosis se caracteriza por la presencia de lesiones pruriginosas en la región perianal provocadas por las hembras adultas que salen al exterior del animal a desovar. Junto a los huevos depositan una secreción irritante que cumple la función de mantener los huevos adheridos en la región perianal. Como consecuencia del prurito los animales se frotan contra elementos fijos, generando depilaciones en la base de la cola, heridas y carácter irritable. Los huevos son arrastrados al exterior por la salida de la materia fecal y en menos de una semana son infectantes contaminando de esta manera el medio ambiente. No se producen migraciones larvarias extra intestinales y su evolución la completan en distintas porciones del intestino delgado y grueso (Castaño 2005, revisado por Gómez et al. 2010).



Figura 3. *Oxyuris equi*

(Fuente: <http://www.liv.ac.uk/diagnosteq/pinworm.htm>)

Gasterophilus sp. (orden Díptera, familia Gasterophilidae)

Se trata de moscas que depositan sus huevos sobre el pelo de las patas delanteras, zona escapular, alrededor de la boca y ollares durante un corto período de la primavera y el verano. Los huevos, de color amarillento, se observan en los extremos de los pelos y son ingeridos por el caballo al lamer estas regiones. Los huevos eclosionan en la cavidad bucal y las larvas liberadas pueden provocar lesiones a nivel de la mucosa gingival, ya que migran a través de ésta. Luego son deglutidas y en el estómago mudan de L2 a L3. Las L3 se fijan en la mucosa estomacal y permanecen en ese lugar por un período de 8 a 10 meses (figura 4). Luego se eliminan con las heces. En el suelo se transforman en pupas y después emergen los imagos para completar el ciclo. Las especies de este género que aparecen con mayor frecuencia son *G. intestinalis* y *G. nasalis*. El efecto patógeno principal es producido por las larvas cuando se adhieren, por medio de sus ganchos bucales, a la mucosa del estómago. Se producen erosiones y ulceraciones en el lugar de fijación, y una reacción hiperplásica alrededor del mismo. Asimismo una alta carga de larvas puede producir una obstrucción a nivel del píloro y hasta la ruptura del estómago. Normalmente generan trastornos en la digestión, diarrea, cólicos intensos y recurrentes, enflaquecimiento progresivo, bajo rendimiento, depresión y hasta la muerte en los casos más graves (Castaño, 2005, revisado por Gómez et al. 2010).



Figura 4. Larvas de *Gasterophilus* sp
(Fuente: <http://www.polomag.com.ar/gastrofilosis.html>)

Estróngilidos (orden *Strongylida*, superfamilia *Strongyloidea*, familia *Strongylidae*)

Los estróngilidos que afectan a los equinos se agrupan en dos subfamilias: la subfamilia *Strongylinae* (grandes estróngilidos) y la subfamilia *Cyathostominae* (ciatostominos o pequeños estróngilidos) cuyas formas adultas se encuentran distribuidas a lo largo del intestino grueso. La principal característica de esta familia es que poseen una cápsula bucal muy desarrollada (elemento que sirve para su clasificación).

Subfamilia *Strongylinae*

Se han descrito cuatro géneros: *Strongylus*, *Triodontophorus*, *Oesophagodontus* y *Craterostomun*; algunos autores incluyen también *Bidentostomun*. Al primer género se lo conoce como “grandes estróngilidos” y a los otros cuatro como “medianos estróngilidos”. En el futuro podría haber una revisión de la sistemática de esta subfamilia, ya que estudios filogenéticos han demostrado que los 4 últimos géneros están más relacionados a la subfamilia *Cyathostominae* (revisado por Osterman Lind 2005).

El género *Strongylus* ha sido reconocido como el más importante de esta subfamilia debido a la importancia patógena de los estadios larvarios cuando realizan migraciones por diferentes órganos del huésped, causando lesiones que pueden originar cuadros clínicos de diversa entidad, incluso pudiendo causar la muerte del animal. Los estadios adultos, poseen una gran cápsula bucal, provocando grandes lesiones en la mucosa intestinal y sustrayendo un volumen sanguíneo considerable (Falcón 2002).

Este género comprende 3 especies que afectan a los equinos: *Strongylus edentatus*, *S. equinus* y *S. vulgaris*.

Estos nematodos miden de 20 a 45 mm (figura 5). Poseen cápsula bucal globular, y tanto *S. vulgaris* como *S. equinus* poseen dientes prominentes que son característicos de cada especie. En todas las especies el ciclo es directo y la forma infectante es la L3, que puede permanecer en las pasturas por varios meses. Cada especie se diferencia por la migración que realizan las larvas luego de ser ingeridas.

En el caso de *S. vulgaris*, considerado el más patógeno de esta subfamilia, la L3 luego de atravesar la pared del ciego y colon y mudar a L4 se introduce en las arteriolas y migra por las ramas cada vez mayores, hasta llegar a las arterias cólica y cecal y a la arteria mesentérica craneal. Algunas larvas también se introducen en la aorta. Luego de 4 meses de migrar, llegan nuevamente a las arterias de la subserosa de la pared intestinal. Allí mudan y provocan lesiones nodulares. Luego, los adultos inmaduros entran a la luz del ciego y colon para completar el ciclo, con un período prepatente de 6 meses como mínimo. Las migraciones provocan arteritis, trombosis y embolias en la arteria mesentérica craneal y sus ramas. La interrupción temporal del flujo de sangre mientras se establece la circulación colateral puede causar cuadros clínicos de cólico (Bowman et al. 2004).

Los adultos de *S. edentatus* y *S. equinus* son aproximadamente el doble de grandes que los de *S. vulgaris* y probablemente consumen el doble de sangre que ellos, pero sus larvas no son tan patógenas. Las L3 de *S. edentatus* llegan al hígado a través de la vena porta y van migrando por este órgano durante 2 meses aproximadamente para luego retornar al ciego. El período prepatente es de 11 meses. Las larvas de *S. equinus* también llegan al hígado donde deambulan por 2 meses para luego emerger y entrar al páncreas o a la cavidad abdominal y luego regresan al intestino grueso. El período prepatente es de 9 meses. Las formas adultas, son comedores agresivos, que lesionan la mucosa y pueden generar la pérdida de sangre (anemia verminosa). Al cambiarse de lugar frecuentemente para alimentarse, aumentan la erosión (Bowman et al. 2004; revisado por Gómez et al. 2010).



Figura 5. *Strongylus* spp. sobre mucosa de intestino
(Fuente: <http://cniia.inta.gov.ar/helminto/confe05/fig2.htm>)

Subfamilia *Cyathostominae*

Debido al uso masivo de drogas muy eficaces contra los grandes estroongilidos éstos han perdido significancia y ha provocado que los pequeños estroongilidos sean los parásitos más prevalentes en equinos de todas las edades (Ferreira Barbosa et al. 2001, Love et al. 1999, Corning 2009). Del 75 al 100% de los huevos eliminados con las heces de los caballos con una infección natural, son producidos por estos ciatostominos (Bowman et al. 2004). Los ciatostominos se observan en el ciego y colon de equinos, incluso con altas prevalencias en animales de 6 años y mayores (Lyons et al. 1999). En un estudio realizado en Brasil (Ferreira Barbosa et al. 2001) en 14 equinos, se encontró que el 80,5% de los parásitos recuperados de los animales necropsiados pertenecían a esta subfamilia, de estos, más del 70% fueron encontrados en animales de entre 12 a 24 meses de edad.

Los ciatostominos miden menos de 2,5 cm de longitud y son de color rojizo (figura 6) (Corning 2009). Según Osterman Lind (2005) los integrantes de la subfamilia *Cyathostominae* comprenden 13 géneros reconocidos, con 52 especies y 1 subespecie en equinos. Es común encontrar 15 o 20 de estas especies parasitando un mismo hospedador.

Los géneros más importantes comprendidos son: *Cyathostomum* sp., *Cylicostephanus* sp., *Cylicocyclus* sp., *Poteriostomum* sp. y *Craterostomum* sp. (Lyons et al. 1999). En un estudio realizado en dos equinos en Uruguay se constató la presencia de *Cylicodontophorus* sp. y *Cylicocyclus* sp. (Falcón 2002).

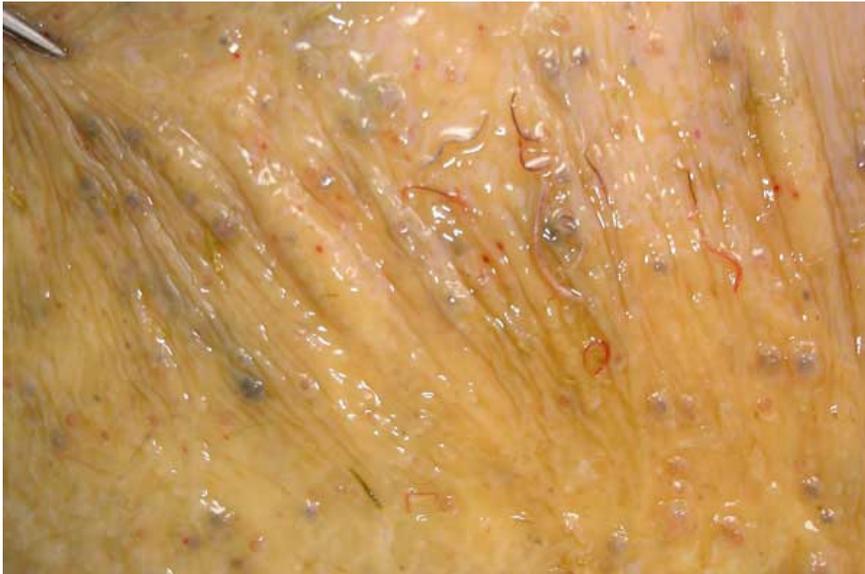


Figura 6. Mucosa de intestino grueso con presencia de nódulos y ciatostominos adultos
(Fuente: <http://www.cuencarural.com/ganaderia/equinos/52519-parasitos-de-los-equinos/>).

Ciclo biológico de los ciatostominos

Los huevos de este grupo son típicos del orden y no se distinguen de otros géneros. La evolución de huevo a larva 3 (L3) en el ambiente tiene un mínimo de 3 a 4 días con condiciones favorables (verano) y un máximo de 17 a 39 días en condiciones adversas (invierno) (Corning 2009). Esta larva infectante mide unas 850 μ posee 8 células intestinales y presenta una vaina de cola alargada en proporción con el resto de su cuerpo. Estas larvas pueden sobrevivir hasta 540 días en el medio, por eso se considera que cualquier pastura en que haya pastado un caballo un año atrás está contaminada (Bowman et al. 2004).

La fuente de infección son las pasturas contaminadas con los huevos de estos parásitos. La L3 infectante ingerida pierde su vaina e invade la mucosa del ciego y colon. Una vez allí se enquistan; en ese momento son llamadas L3 tempranas (early L3 = EL3), descrita así porque no se pueden observar diferencias con las L3 infectantes ingeridas con la pasturas. Más del 90% de las larvas enquistadas pueden “inhibir” su desarrollo en el estado de EL3 y permanecer en la pared intestinal desde 4 meses hasta 2 años (Bowman et al. 2004; Corning 2009).

Las señales externas o internas recibidas por las larvas de ciatostominos que determinan la detención del desarrollo o hipobiosis, no han sido identificadas definitivamente. Existen evidencias observacionales y experimentales que sugieren ciertos roles para mecanismos tanto estacionales como biológicos. La evidencia para las señales estacionales

recibidas por las larvas de la mucosa, sugieren una función evolutiva conservada, para retrasar la transformación de las larvas en adultos fecundos, hasta el momento en que las condiciones externas favorezcan el desarrollo de los huevos a larvas infectantes en la pastura. Esto se manifiesta durante el otoño e invierno como un aumento relativo en el porcentaje de fases hipobióticas y enquistadas, paralelamente con una disminución en el porcentaje de las fases luminales. A finales del invierno y principio de la primavera aumenta el porcentaje de los estados luminales. Esto se demuestra mejor teniendo en cuenta que, en los climas templados las larvas se enquistan durante los meses fríos y emergen cuando mejoran las condiciones en primavera. Por el contrario, en climas tropicales, las larvas se inhiben durante los meses estresantes de calor y emergen en otoño (Corning 2009). También existe evidencia de que las larvas de la mucosa reciben señales físicas o biológicas que pueden ser demostradas después de la remoción de los estados luminales por tratamientos antihelmínticos. Se cree que la eliminación de los adultos luego de un tratamiento efectivo, es la señal para que una porción de larvas en hipobiosis retomen su desarrollo y ocupen el nicho de lumen dejado vacante (Gibson 1953; citado por Monahan 2002).

Las fases de desarrollo subsecuentes dentro de la mucosa intestinal son la L3 tardía (late L3 = LL3) y luego el cuarto estado larval (L4), identificable por el desarrollo de la cápsula bucal. La L4 será el estado más avanzado encontrado en los tejidos de la mucosa o de la submucosa (Monahan 2002).

Luego de que las L4 surgen de su enquistamiento y vuelven al lumen del ciego o del colon, maduran al quinto estado larval y después evolucionan en adultos fértiles productores de huevos, completando el ciclo vital. El período prepatente, cuando no hay hipobiosis, es de unos 2 meses, aunque en algunos casos se ha observado períodos más cortos de tan solo 5 o 6 semanas (Bowman et al. 2004).

Epidemiología de los pequeños strongilidos

En zonas templadas de América del Norte se observan aumentos estacionales de eliminación de huevos de strongilidos con picos en primavera y verano. De esta forma los huevos son depositados en el ambiente justo en el momento de mejores condiciones para su desarrollo a larvas infectantes. Estos patrones no están relacionados a la preñez, lactación o período peri parto como ocurre en ovinos. Se piensa que el pico de huevos en la materia fecal observado en primavera es causado por la desinhibición de las larvas enquistadas. Como consecuencia de esos picos estacionales el aumento de las L3 en las pasturas se da en verano/otoño. Muchas larvas sobreviven a muy bajas temperaturas durante el invierno, pero mueren en la primavera siguiente cuando aumenta su actividad y sus reservas son escasas. Además el aumento de pasturas en la primavera hace

que esas larvas se diluyan (Herd & Coles, 1995).

En nuestra región, se observó que debido a las condiciones climáticas, las L3 en las pasturas no detienen su desarrollo por acción del frío, sólo lo retardan, y por lo tanto siempre es posible encontrar larvas en el medio. La evolución de los huevos a L3 puede demorar de 4 a 39 días, mientras que las L3 pueden sobrevivir en las pasturas de 5 a 11 meses, dependiendo de las condiciones climáticas. La época más favorable para el desarrollo de larvas en las pasturas se extiende desde primavera hasta principios de otoño, siendo un período más extenso que en el hemisferio norte (Fusé et al. 1992).

Coincidiendo con lo anterior, según un estudio realizado sobre 40 caballos en La Pampa, Argentina (Lamberti et al. 2008) el mayor porcentaje de larvas en las pasturas se encontró en los meses de otoño (marzo, abril, mayo) y primavera (octubre y noviembre). Las mayores cantidades de huevos en las materias fecales fueron observadas en los meses de noviembre a marzo.

En otro estudio realizado durante 3 años en 100 potrancas en Buenos Aires se observó que los conteos más elevados de hpg se dieron en verano y otoño (Fusé et al. 2002).

Patogenia de los pequeños estrogilidos– Ciatostominosis larval

Además de poseer mayor prevalencia, los ciatostominos han tomado mayor relevancia clínica debido a la mayor incidencia de la ciatostominosis larvaria, descrita como un síndrome de diarrea aguda, que se torna crónica y se asocia con emaciación y en algunos casos con la muerte del equino en 2 a 3 semanas. Otros síntomas pueden ser: cólico, edema subcutáneo y fiebre (Love et al. 1999; Murphy & Love, 1997). Este cuadro es debido a la emergencia sincronizada de las larvas enquistadas que destruyen la superficie de la mucosa del ciego y colon ventral. Los factores de riesgo descritos para los caballos incluyen: la estación del año (final del invierno o a principio de la primavera), animales de 6 años de edad o más jóvenes y un tratamiento antihelmíntico reciente que eliminó las larvas y adultos que vivían en el lumen (Monahan 2002). El intestino grueso de los animales afectados presenta inflamación catarral y fibrinosa acompañada de focos hemorrágicos difusos; también se pueden observar nódulos necróticos en la mucosa como secuela de las larvas hipobioticas que emergieron (Love et al. 1999).

Una segunda forma clínica de ciatostominosis larval ocurre durante la época de pastoreo, pero sin el ataque agudo de diarrea característico de la forma clásica. El animal presenta una condición progresiva de desgaste y pérdida de peso a pesar de que la alimentación sea buena. Esta forma no es secundaria a la salida de las larvas hipobioticas; más bien la enfermedad es secundaria a la acumulación progresiva de larvas enquistadas, que llevan a un engrosamiento de la mucosa que resulta en una disminución de la absorción de nutrientes y una eficiencia alimenticia pobre. La patogenidad de la ciatostominosis adulta reviste poca entidad. La mayoría de los nematodos adultos se alimenta en la superficie intestinal, mientras que solo unos pocos son capaces de succionar mucosa y llegar a destruir capilares. (Love et al. 1999; Monahan 2002).

Inmunidad

La inmunidad adquirida contra ciatostominos se desarrolla lentamente y es incompleta. Esta característica es común en la relación huésped-parásito. A pesar de esto, existen evidencias tanto de trabajos de campo como de infestaciones experimentales de que en los equinos ocurre la resistencia adquirida. En general los recuentos de huevos en materia fecal son menores en animales más viejos que en animales jóvenes mantenidos bajo las mismas condiciones; además el período de reaparición de huevos es menor en animales jóvenes. Estas diferencias pueden explicarse por la ausencia de una respuesta inmune robusta, lo que permite mayores niveles de reinfección. La distribución de las frecuencias de hpg cuando los animales son más jóvenes puede presentar un mayor rango con más individuos con altos hpg y no la distribución típica de una infección parasitaria donde pocos animales albergan altas cargas parasitarias. También se sugiere que altas

cargas parasitarias pueden ocurrir en animales maduros; sin embargo como los hpg no reflejan infestación por parásitos inmaduros, los equinos jóvenes estarán más parasitados (Klei & Chapman, 1999).

Los mecanismos efectores de la inmunidad contra parásitos gastrointestinales están regulados por citoquinas producidas por los linfocitos Th-2. Estas citoquinas incluyen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, algunas de ellas también pueden ser producidas por otras células además de los T helpers. Ellas son responsables en parte por el aumento en los eosinófilos, mastocitos e IgE. Estos efectores son clásicamente asociados con una hipersensibilidad inmediata y con la inmunidad contra nematodos gastrointestinales (Klei & Chapman. 1999).

Control de las parasitosis de los equinos

Como en el resto de las especies domésticas, el control parasitario en los equinos no es simple y no existe un programa que pueda usarse en todos los casos. Por lo tanto, las estrategias de control deben ser hechas a la medida para cada establecimiento y situación. Únicamente usando las mejores herramientas y diseñando estrategias de control efectivas, se podrán controlar las parasitosis.

Las estrategias de control en equinos implican actualmente, casi exclusivamente, el uso de antihelmínticos. Pero, debido al avance de la resistencia antihelmíntica (RA) se ha complementado con otras medidas de manejo (Kaplan 2002).

a) Antihelmínticos disponibles

Los antihelmínticos más comúnmente empleados en equinos, caen dentro de 4 familias: lactonas macrocíclicas (LM), benzimidazoles (BZ), tetrahidropirimidinas (THP) y los órgano fosforados (OF).

Benzimidazoles

Los compuestos de esta familia más usados en equinos son: fenbendazol, mebendazol, oxbendazol, oxfendazol y febantel. Son los antiparasitarios con mayor margen de seguridad.

Estos compuestos presentan dos mecanismos de acción de: 1) inhibición del sistema enzimático de la fumarato reductasa, la cual es vital para la producción de energía en la mayoría de los parásitos y 2) fijación a la tubulina de los parásitos, lo que impide la unión de las subunidades de proteína α y β de la tubulina y altera la función y estructura de los microtúbulos en las células intestinales de los nematodos. Esta última acción interfiere con la división y función de las células y con la nutrición del parásito (Herd & Coles, 1995). El efecto farmacológico de los BZ es más lento que aquellos que actúan sobre la coordinación muscular del parásito; esto determina que su acción antihelmíntica no sea inmediata (revisado por Mottier & Lanusse, 2002).

Todos los BZ poseen actividad nematocida de amplio espectro sobre adultos y estadios inmaduros (95 a 100% de eficacia). A una dosis de 5 a 7,5 mg/kg son efectivos (95-97%) contra grandes y pequeños strongilidos (no resistentes) y *O. equi* y *P. equorum* adultos. A 10 mg/kg contra larvas de *P. equorum*. Un protocolo de 10 mg/kg de fenbendazol durante 5 días ha demostrado tener alta efectividad sobre los ciatostomas enquistados en la mucosa y contra las formas migratorias de *S. vulgaris*. El oxbendazole usado en un protocolo similar también ha mostrado eficacia contra larva enquistadas (Hutchens 1999; Monahan 2002).

Lactonas macrocíclicas

Esta familia está compuesta por las avermectinas (ivermectina, abamectina y doramectina) y las milbemicinas (moxidectin). Las LM actúan uniéndose a un receptor de los canales iónicos selectivos a cloro; estos receptores se denominan GluCl ya que su ligando natural es el glutamato. Esto hace que el canal se abra y permita la entrada del ion cloro, lo que genera una parálisis flácida (Mottier & Lanusse, 2002). En la actualidad solo la ivermectina (IVM) y el moxidectin (MOX) están aprobados para su uso en caballos.

Todas las LM tiene amplio espectro de acción, alta eficacia (99 a 100%) y cierta acción residual con una sola dosis. Están indicadas para el control de grandes estroongilidos (adultos y larvas migratorias), pequeños estroongilidos, *P. equorum*, *O. equi*, *Habronema* spp., *Gasterophylus* spp. y *S. westeri* (Sangster 1999).

IVM y MOX son igualmente eficaces (>99%) para combatir los ciatostominos presentes en el lumen intestinal. Sin embargo, la IVM a la dosis convencional de 0.2mg/kg p.v. no elimina larvas enquistadas de ciatostominos, lo que sí ha demostrado en cierta forma el MOX. Además el MOX presenta mayor período residual (aproximadamente 12 semanas) (revisado por Molento et al. 2011).

Tetrahidropirimidinas

El pirantel (PIR) es el único miembro de esta familia usado en equinos. El pamoato de pirantel se recomienda en equinos a una dosis de 6.6 a 13.2 mg/kg p.v por vía oral para tratar nematodos y cestodes (a la dosis mayor) pero no contra *Gasterophylus* spp. Actúa como un potente agonista colinérgico en los receptores de acetilcolina de las células musculares de los nematodos. La activación de los receptores de acetilcolina induce una parálisis espástica prolongada del parásito y su expulsión del huésped. Esta droga está aprobada para el control de grandes y pequeños estroongilidos, *O. equi*, *P. equorum* y *Anoplocephala* spp. a mayor dosis (Hutchens 1999).

Órgano fosforados

Diclorvos y triclorfón son las drogas de esta familia utilizados como antihelmínticos en equinos. Actúan principalmente inhibiendo la acetilcolinesterasa de los parásitos, causando parálisis espástica. Son muy efectivos contra *Gasterophylus* spp, *O. equi* y *P. equorum*. Tienen bajo margen de seguridad por lo que su uso debe ser muy controlado (Herd & Coles 1995).

En el cuadro I se resumen las principales características de los antihelmínticos más usados en equinos.

Cuadro I. Familia, espectro de acción y dosis recomendada de los antihelmínticos usados en equinos en el mundo.

Familia	Drogas aprobadas para equinos	Espectro de acción	Dosis recomendada
Bencimidazoles	fenbendazol, mebendazol, oxibendazol, oxfendazol y febantel	Grandes y pequeños strongilidos (no resistentes) y <i>O. equi</i> y <i>P. equorum</i> adultos	5 a 7,5 mg/kg pv
		Larvas enquistadas de pequeños strongilidos	10 mg/kg pv por 5 días
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina	Grandes strongilidos (adultos y larvas migratorias), pequeños strongilidos (adultos y L4), <i>P. equorum</i> , <i>O. equi</i> , <i>Habronema</i> spp., <i>Gasterophylus</i> spp. y <i>S. westeri</i>	0.2mg/kg pv
	Moxidectin	Idem que ivermectina más larvas enquistadas de pequeños strongilidos	0.4mg/kg pv
Tetrahidropirimidinas	Pirantel	Grandes y pequeños strongilidos, <i>O. equi</i> , <i>P. equorum</i> y <i>Anoplocephala</i> spp. a la mayor dosis.	6.6 a 13.2 mg/kg pv
Órgano fosforados	Diclorvos	Grandes y pequeños strongilidos <i>Gasterophylus</i> spp, <i>O. equi</i> y <i>P. equorum</i>	10-20 mg/kg pv
	Triclorfón	<i>Gasterophylus</i> spp, <i>O. equi</i> y <i>P. equorum</i>	40 mg/kg pv

b) Programas de control

El objetivo del control parasitario, referido a los estrogilidos, es reducir el número de huevos y L3 infectantes en las pasturas y por lo tanto prevenir los casos clínicos y subclínicos de estos helmintos.

Hay diferentes programas para el tratamiento con antihelmínticos, los cuales han sido descritos por diferentes trabajos y han sido adoptados en mayor o menor medida por los criadores y cuidadores de caballos. Estos pueden clasificarse como:

i) Tratamientos a intervalos fijos: esta estrategia de control comenzó en la década de los 60 cuando varios investigadores recomendaban la desparasitación cada 6 a 8 semanas de todos los equinos del establecimiento. Luego, con la introducción de antiparasitarios más potentes, se comenzó a recomendar diferentes intervalos y se adoptaron variadas costumbres. Por ejemplo, en Sudáfrica es común desparasitar cinco a siete veces por año; en Irlanda y Reino Unido entre 4 y 6 veces por año y según estudios en EE.UU. es común desparasitar al menos 4 veces por año. En ese país también se ha descrito la dosificación mensual y diaria con tartrato de pirantel en algunos establecimientos (revisado por Nielsen 2011). Otra característica de esta estrategia es la rotación de drogas. Esta herramienta normalmente se describe como rotaciones "rápidas" ó "lentas" basadas en si las diferentes clases de antihelmínticos se rotan entre tratamientos o entre años calendario.

ii) Tratamientos estratégicos: están basados en la epidemiología de los parásitos y en las condiciones climáticas de la región. En el hemisferio norte se recomiendan desparasitaciones durante la primavera y verano para controlar los picos de eliminación de huevos que se dan en esa época del año. Esta estrategia probó ser igual de eficaz que los tratamientos durante todo el año (Herd & Coles 1995; Love 2003).

En nuestra región, según estudios epidemiológicos se ha recomendado desparasitar en los meses de enero- marzo- julio y septiembre. En verano y otoño para eliminar los parásitos adultos de lumen, coincidiendo con la mayor eliminación de huevos y las larvas de gastrófilos. En invierno y primavera para eliminar las larvas inhibidas de pequeños estrogilidos que se han acumulado desde fines de otoño e invierno y así disminuir la contaminación de las pasturas (Fusé et al. 2002, Lamberti et al. 2008).

iii) Tratamientos selectivos a animales con valores de hpg por encima de un valor determinado: los tratamientos selectivos tienen como objetivo aumentar los parásitos en refugio. Estos son parásitos no expuestos al tratamiento y por lo tanto no reciben presión de selección para la resistencia: pueden ser los estadios larvarios en las pasturas, los parásitos de animales no tratados y en el caso de los ciatostominos, las larvas enquistadas. Estos parásitos

sirven para “diluir” a los parásitos resistentes que sobrevivieron al tratamiento. Como en otras especies, la base de este tratamiento es que la mayoría de los individuos albergan bajas cargas parasitarias y sólo unos pocos están altamente parasitados. De esto se desprende que tratar a todos los caballos por igual significa dar varias dosificaciones innecesarias. Hay diferentes métodos para identificar qué individuos necesitan tratamiento; en ovinos se puede utilizar el método FAMACHA; en otros casos se puede utilizar la condición corporal del animal. En el caso de los equinos la mejor forma de identificar cuáles animales necesitan tratamiento, es realizando conteos de huevos por gramo de materia fecal (hpg). Algunos autores han propuesto 500 hpg como el punto de corte para desparasitar (Nielsen et al. 2010b), otros recomiendan desparasitar cuando el conteo de hpg es mayor a 150 (Herd & Coles 1995; Coles et al. 1992) o mayor a 200 (Uhlinger & Kristula, 1992; Molento 2005). Como se ve, hay varios puntos de vista al respecto. Otros estudios han demostrado que algunos caballos presentan recuentos de hpg consistentemente bajos y si se logran identificar mediante conteos de hpg seguidos, sería mejor no tratarlos (Döpfer et al. 2004).

iv) Tratamientos tácticos: Se efectúan en diferentes momentos cuando la situación parasitaria lo amerita. Se debe tener en cuenta la curva de infestación de las pasturas, para aplicarlo en el momento en que la carga de larvas en las mismas sea máxima.

Cualquiera sea la estrategia utilizada, un punto importante a tener en cuenta al elegir la droga es el período de reaparición de huevos (PRH). Se denomina así al período desde que el hpg es cero luego del tratamiento hasta el retorno de la eliminación de huevos. La duración del PRH estará influenciada por la edad del caballo (los caballos más jóvenes tiene menor PRH que los más viejos), por el antihelmíntico empleado y por la intensidad de la reinfección por larvas de la pastura (Uhlinger & Kristula, 1992). Diferentes familias de antihelmínticos proveen diferentes duraciones de PRH: para el PIR el PRH es de 4 a 6 semanas, los BZ tiene un PRH intermedio (hasta 8 semanas) y las LM presentan el PRH más largo (8 a 14 semanas para la IVM y 15 - 24 semanas para el MOX) (Sangster 1999; Monahan 2002). Estos factores dinámicos deben ser considerados por el veterinario y es esencial que en un programa de control integral eficaz se supervise el PRH adecuadamente durante la estación de pastoreo. Los intervalos del tratamiento más largos que el PRH conducen a la eliminación de huevos y a la contaminación de la pastura; los intervalos de tratamiento más cortos que el PRH conducen a dar más tratamientos que los necesarios, incrementando así el riesgo de desarrollo de resistencia a la droga.

v) Control integrado de ciatostominos

Debido al avance de la resistencia antihelmíntica en los pequeños strongilidos, las prácticas de control deben pensarse para enlentecer su desarrollo y avance. Por eso, los tratamientos químicos deben ser integrados a un programa de control que incluya medidas de manejo para minimizar el

uso de antihelmínticos. Estas medidas pueden ser:

Manejo de las pasturas: el arado y recorte de las pasturas, y el particularmente práctico pastoreo mixto con otras especies, son útiles para reducir la carga parasitaria. Sin embargo, se han realizado muy pocos estudios en establecimientos con equinos y la mayoría de las recomendaciones se hacen basadas en los estudios con rumiantes (Nielsen 2011). Un estudio realizado en Brasil demostró que el pastoreo de equinos junto con ovinos redujo la contaminación de las pasturas y consecuentemente el número de tratamientos en los equinos (Lanes de Almeida et al. 2008).

Limpieza de las pasturas y establos: la remoción de la materia fecal de las pasturas y establos ha sido recomendado como una ayuda importante en el control parasitario reduciendo los niveles de infección por strongilidos. En general se habla que dependiendo de las condiciones climáticas, quitar la materia fecal de las pasturas una o dos veces por semana puede incidir positivamente en la carga parasitaria de los animales (Herd & Coles, 1995; Lloyd et al. 2000). Obviamente esta acción es poco práctica, pero sí es posible mantener limpio el piso y las camas de los establos.

Otras medidas de manejo:

- Realizar tratamiento antihelmíntico y cuarentena de los animales recién llegados y madres recientes, para evitar introducir cepas parasitarias resistentes y disminuir la contaminación de las pasturas.
- Pesar animales antes de la dosificación para administrar la dosis correcta y luego regularmente para evaluarla ganancia de peso.
- Evaluar cada 1 o 2 años la eficacia de las drogas más usadas en el establecimiento mediante el TRCH.
- Rotar las drogas con una base anual (rotación lenta).

El problema de la resistencia antihelmíntica

a) Generalidades

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 (Prichard et al. 1980, citado por Stratford et al. 2011).

El uso intensivo y masivo de los antihelmínticos ha resultado en el desarrollo de resistencia de los helmintos de varios animales domésticos (ovinos, bovinos, equinos y porcinos) a las drogas, lo que representa una amenaza para controlar las infestaciones parasitarias.

Al comienzo del desarrollo de la resistencia, solo una pequeña parte de la población parasitaria posee tolerancia genética al tratamiento. Ante reiteradas desparasitaciones con una misma droga, la población mayoritariamente susceptible muere y sobreviven los individuos resistentes que, luego de los sucesivos tratamientos, aumentan en número y transmiten esta capacidad de generación en generación y así se instala el fenómeno de resistencia. Por lo dicho anteriormente, vemos que la RA es un proceso genético dinámico que ocurre lentamente en el tiempo, mientras los alelos que confieren un fenotipo resistente aumentan lentamente su frecuencia con los ciclos repetidos de selección de las drogas. Es por esa lenta evolución a lo largo de los años, que el problema se mantiene clínicamente inaparente hasta sus etapas finales, cuando la frecuencia de los alelos alcanza niveles demasiado altos (Sangster 1999). Luego, comienza a hacerse patente como problema práctico en los primeros establecimientos pecuarios, extendiéndose rápidamente. Muchos investigadores han demostrado que cuando ya se ha desarrollado la resistencia en los nematodos, ni siquiera el cese de tratamiento con la respectiva droga por muchos años eliminaría la resistencia. Sin embargo, no se sabe aún cuál es el punto de “no retorno” de la RA (Lyons et al. 2007; Slocombe et al. 2008).

Este problema es grave en los bovinos y ovinos, sobre todo en estos últimos, ya que se ha detectado RA a la mayoría de las drogas disponibles y en algunos casos se han encontrado establecimientos con resistencia a múltiples drogas, lo que hace el control parasitario casi imposible (Nari et al. 1996).

b) Quimiorresistencia de helmintos del caballo

Hasta el momento los pequeños estrogilidos y *P. equorum* son los únicos parásitos de los equinos en los que se ha diagnosticado RA (Kaplan 2002; Reinemeyer 2011).

Los primeros diagnósticos de RA en equinos fueron realizados en Reino Unido cuando se observó resistencia de los ciatostominos a la fenotiazina y

luego en EE.UU. a comienzos de la década de los 60 (revisado por Kaplan 2002). En 1965, se diagnosticó el primer caso de resistencia de los pequeños estrogilidos al tiabendazol, apenas 4 años luego de la introducción de esa droga en el mercado (Drudge & Lyons, 1965, citado por Osterman Lind 2005). La RA de los ciatostominos a los BZ está muy extendida en países de todos los continentes (revisado por Lyons et al. 1999; Kaplan 2002; Brady & Nichols, 2009).

En nuestra región, se ha diagnosticado en Brasil (Luz Pererira et al. 1994, Molento et al. 2008), Argentina (Anziani & Catanzaritti, 2005) y Chile (von Witzendorff et al. 2003). En Uruguay existe un único trabajo publicado sobre RA de ciatostóminos a un BZ realizado en un establecimiento (Castells et al. 1995).

El grado de avance de RA a los BZ ha alcanzado niveles tan altos que, en algunos países como EE.UU., Inglaterra y Alemania se ha encontrado una prevalencia de más del 80% de los establecimientos con RA (Kaplan et al. 2004; Traversa et al. 2009). También se detectó RA a BZ en más del 80% de las granjas estudiadas en Holanda y Dinamarca (Boersema et al. 1991; Craven et al. 1998). Estos y otros datos se resumen en el cuadro II.

Cuando se diagnostica RA a una droga de la familia de los BZ también existe resistencia lateral con el resto de los miembros de la familia (Kaplan 2002).

Cuadro II. Estudios de resistencia de pequeños estrongilidos a los bencimidazoles similares al presente, encontrados en establecimientos de diferentes países.

Droga	País	% establecimientos afectados	N° de establ. estudiados (n° equinos)	Referencias bibliográfica
Cambendazol	Holanda	80%	22 (616)	Boersema et al. (1991)
Fenbendazol	Noruega	82,4%	17 (221)	Ihler (1995)
Fenbendazol	Dinamarca	80%	42	Craven et al. (1998)
Mebendazol	Bélgica	92%	13 (302)	Dorny et al. (2000)
Fenbendazol	Eslovaquia	73,7%	19 (243)	Varady et al. (2000)
Fenbendazol Oxibendazol	EE.UU	97,7% 53,3 %	44 (786)	Kaplan et al. (2004)
Fenbendazol	Italia	37,5%	16 (276)	Traversa et al. (2007)
Fenbendazol	Italia Reino Unido Alemania	38% 82,4% 84,6%	50 (988) 17 (396) 13 (320)	Traversa et al. (2009)
Mebendazol Oxibendazol	Brasil	100%	3 (136)	Luz Pereira et al. (1994)
Fenbendazol	Uruguay	100%	1 (120)	Castells et al. (1995)
Fenbendazol	Argentina	100%	1 (50)	Anziani & Catanzaritti, (2005)
Fenbendazol	Chile	100%	3 (100)	von Witzendorff et al. (2003)

También se ha diagnosticado RA de los ciatostominos al PIR, aunque su desarrollo ha sido más lento y su dispersión es mucho menor si lo comparamos con los BZ. La mayor cantidad de casos se han reportado en EE.UU. y unos de los principales causantes de esta situación es que en la década de los 90 se comenzó a recomendar el uso de tartarato de pirantel dosificado diariamente junto con la comida de los caballos para el control parasitario (revisado por Kaplan 2002). Además de EE.UU., se han publicado trabajos sobre RA al PIR en Alemania, Italia, Inglaterra y Dinamarca (Craven et al. 1998; Coles et al. 1999; Traversa et al. 2007; Traversa et al. 2009). En un estudio realizado en el sur de EE.UU., más del 40% de los establecimientos evaluados presentaron resistencia a los BZ y al PIR a la vez (Kaplan et al. 2004).

Las LM ha sido la familia más utilizada para desparasitar equinos en las últimas décadas y han dominado el mercado mundial de antihelmínticos para equinos. Es sorprendente que a pesar de esto aún no se haya diagnosticado claramente RA de los pequeños estrongilidos a esta familia. La IVM y el MOX aún presentan buena eficacia en la mayoría de los establecimientos donde se han estudiado, sin embargo han aparecido casos aislados donde se ha detectado una reducción en la eficacia de la IVM contra los ciatostominos debido al progresivo acortamiento en el PRH que era de 8 a 10 semanas cuando se lanzó la droga al mercado (Hutchens 1999; Molento et al. 2011). El primer caso de falla en el tratamiento con una LM se diagnosticó en asnos tratados con MOX en Inglaterra (Trawford et al. 2005). En Alemania se publicó un trabajo donde el PRH fue de 5 semanas luego del tratamiento con IVM (von Samson-Himmelstjerna et al. 2007) y en EE.UU. Lyons et al. (2008) encontraron huevos en la materia fecal luego de 4 semanas del tratamiento. En Brasil se detectaron eficacias menores al 85% a los 21 días de tratamiento con IVM, MOX y abamectina (Molento et al. 2008) y más recientemente, en un estudio realizado conjuntamente en Alemania, Inglaterra e Italia, se sospechó la existencia de resistencia a la IVM en el 3% de los establecimientos participantes (Traversa et al. 2009). Muchos investigadores consideran que el desarrollo de RA de los ciatostominos a las LM es inevitable, teniendo en cuenta que se ha diagnosticado en parásitos taxonómicamente muy cercanos de rumiantes.

Desde 2002 se han publicado casos de RA de *P. equorum* a la IVM (Boersema et al. 2002) principalmente en EE.UU. y Canadá pero también en Europa. Esto se atribuye al uso casi exclusivo de LM para desparasitar potrillos (Reinemeyer 2011).

c) Mecanismos de la resistencia

La selección para resistencia a los BZ surge de la pérdida de susceptibilidad más que a la adquisición de un nuevo mecanismo molecular, ya que se debe a una modificación en su sitio de acción, la β tubulina. Cuando los genes que codifican para β tubulina sufren mutaciones, al expresarse presentan un cambio aminoacídico en la posición 200 del isotipo 1 de la β tubulina. Esto se ve reflejado en la disminución de la unión específica de los BZ con la consecuente disminución en su efecto farmacológico (Mottier & Lanusse, 2002).

Se sabe que esa mutación en *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis* es un polimorfismo de nucleótido simple (SNP) que resulta en la sustitución de fenalanina por tirosina en el codón 200 en los parásitos resistentes. Más recientemente se observó una mutación similar en el codón 167 de β tubulina isotipo 1 de *Teladorsagia circumcincta* y ciatostominos y se piensa que esto puede ser el principal mecanismo de resistencia en estos últimos, junto con las mutaciones en el codón 200. Por lo tanto, se sospecha que el mecanismo de resistencia a los BZ en los pequeños estrogilidos involucra más de una mutación (Lake et al. 2009).

La resistencia a las tetrahidropirimidinas como el PIR, que son agonistas colinérgicos, se produce por cambios en las propiedades de los receptores nicotínicos y a través de una alteración en la unión de estos fármacos con sus receptores en las células musculares del nematode. Sin embargo, la base molecular exacta parece no estar clara aún (Mottier & Lanusse, 2002).

d) Métodos de diagnóstico de resistencia antihelmíntica en equinos

Para el diagnóstico de RA hay disponibles pruebas *in vivo* e *in vitro*. La posibilidad de detectar la resistencia en una etapa temprana de su desarrollo es una herramienta fundamental para el futuro del control parasitario. Por esta razón, existe un esfuerzo permanente de refinar, estandarizar y validar estas pruebas (FAO 2004).

Pruebas *in vivo*

Test controlado: En este test, la eficacia de un antihelmíntico es determinada comparando poblaciones de parásitos en grupos de animales tratados y no tratados. Los animales parasitados son divididos en grupos tratados y no tratados. 10 a 15 días posteriores al tratamiento se realiza la necropsia de los animales, los parásitos son recuperados, identificados y contados. Este test no es de uso extensivo, excepto en casos de especial interés o cuando se requiere confirmación de resistencia de una especie y para evaluar la eficacia sobre estadios larvarios (FAO 2004).

Según Coles et al. (2006) el test de eficacia controlado es el método más confiable para confirmar la RA pero su costo usualmente restringe su uso.

De todas formas, considera que es la prueba de oro (estándar) para detectar RA.

Test de reducción de conteo de huevos: El método más utilizado para la detección de resistencia continúa siendo el test de reducción del conteo de huevos (TRCH). Este test fue originalmente diseñado para ovinos pero se ha adaptado a bovinos, suinos y equinos (FAO 2004).

Según Kaplan (2002), este test puede considerarse prueba de oro práctica. Las ventajas de este test son: ser práctico y no necesitar de un equipamiento sofisticado. Además, puede ser utilizado con todos los grupos de antihelmínticos (Coles et al. 2006). Este método provee una estimación de la eficacia antihelmíntica a través de la comparación de los conteos de huevos por gramo de materia fecal (hpg), entre animales que reciben tratamiento y un grupo sin tratamiento (Coles et al. 1992; FAO 2004).

Las desventajas del TRCH son:

a) solo detecta la eficacia de las drogas sobre parásitos adultos y en general cuando la resistencia ya está instalada

b) implica importantes costos en términos de personal, animales, alimento, transporte, material, instalaciones y tiempo.

c) falta consenso en algunos aspectos como: el punto de corte del % de RCH que indica presencia de resistencia para cada droga y especie, la interpretación de los datos, la relación entre el conteo de huevos y la carga parasitaria para algunas especies de parásitos, entre otros (Coles et al. 2006).

TRCH en equinos: El TRCH es el método más utilizado para evaluar la eficacia de antihelmínticos sobre estrongilidos de equinos. Además es la única prueba disponible para evaluar la eficacia de todas las drogas disponibles en el campo (von Samson-Himmelstjerna 2011).

Según Coles et al. (2006) lo ideal es utilizar animales con un mínimo de 150 hpg. Si es posible se deben utilizar grupos de 6 animales como mínimo.

Para realizar este test, pueden utilizarse diferentes métodos que implican variadas fórmulas. Cuatro son las fórmulas matemáticas más utilizadas para calcular el %RCH en equinos:

1) fórmula de Dash et al.(1988): esta fórmula utiliza las medias aritméticas de los grupos tratados y control pre y pos tratamiento.

2) fórmula de Presidente (1985, citado por Cabaret & Berrag, 2004): es similar a la anterior pero utiliza la media geométrica en lugar de la media aritmética.

3) fórmula que recomienda la WAAVP (Coles et al. 1992): esta fórmula utiliza la media aritmética del grupo tratado y control pos tratamiento. También se calcula el intervalo de confianza (IC) del 95%. Para esto cálculos se recomienda el programa RESO.

4) Fórmula que utiliza al mismo animal como su control, tomando muestras pre y pos tratamiento (citada por Pook et al. 2002 y Cabaret & Berrag, 2004).

Los valores de corte para diagnosticar resistencia varían entre los diferentes autores y trabajos publicados. Bauer et al. (1986); Coles et al. (1992) y Varady et al. (2000) recomiendan una reducción en el conteo de huevos <90% para diagnosticar resistencia. Otros investigadores, han utilizado valores más conservadores para minimizar la posibilidad de sobreestimar la presencia de RA. Ellos recomiendan declarar los tratamientos como eficaces si la RCH fue $\geq 90\%$, sospecha de resistencia si el % de RCH estuvo entre 80 y 90% y presencia de resistencia con $< 80\%$ en la RCH (Kaplan et al. 2004; Traversa et al. 2007). Sin embargo todos estos autores concuerdan en que sin importar cuál sea el valor de corte, este se utilizará para todas las drogas a testear (Vidyashankar et al. 2011).

Test *in vitro*

Dentro de las técnicas *in vitro* que se utilizan para diagnosticar RA en rumiantes están:

- Test de eclosión de huevos
- Test de desarrollo de larvas
- Test de inhibición de migración de larvas
- Test de inhibición de alimentación de larvas.

La mayoría de estos tests *in vitro* aún no están estandarizados y carecen de repetitividad en los resultados entre distintos laboratorios. Su uso se restringe a la investigación. Son técnicas que requieren personal entrenado para realizarlas y en algunos casos equipamientos costosos. Idealmente, estos test precisan infestaciones mono-específicas ya que pueden presentarse problemas en la interpretación de los datos con infestaciones naturales con diferentes especies de parásitos. De todos los test mencionados, el test de desarrollo de larvas, el test de eclosión de huevos y el de inhibición de migración de larvas son los que cuentan con protocolos para detectar ciatostominos resistentes a los BZ y al PIR. El único disponible comercialmente es el DrenchRite[®] que es un test de inhibición de desarrollo larval desarrollado por Microbiology Screening Technologies (Australia). De acuerdo al fabricante este test puede utilizarse para detectar resistencia a BZ, PIR y LM. Sin embargo se han detectado muchas variaciones entre los diferentes grupos que han utilizado el kit, por lo que actualmente no se

considera un test fiable (Matthews et al. 2011; von Samson-Himmelstjerna 2011).

Técnicas moleculares: El desarrollo de técnicas que permitan la diferenciación molecular de parásitos resistentes y sensibles mediante el empleo de marcadores moleculares es una herramienta de gran utilidad, que permite una aproximación al diagnóstico de poblaciones resistentes en forma temprana, cuando es posible revertir la situación mediante medidas de manejo de los antiparasitarios en el rodeo en forma adecuada. Estas técnicas moleculares se han desarrollado para detectar polimorfismos en el gen de la β tubulina asociados a RA en trichostrongilidos especialmente de pequeños rumiantes. En lo referente a ciatostominos, se sabe que polimorfismos similares están asociados a la resistencia a los BZ, pero con la diferencia que hasta ahora se han analizado molecularmente muy pocas poblaciones de estos parásitos por lo tanto la importancia de estos polimorfismos o de otros precisa ser investigado aún (Stratford et al. 2011).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la presencia de resistencia antihelmíntica en nematodos de equinos en algunos establecimientos del Uruguay.

Objetivos particulares

1. Evaluar la presencia de poblaciones de pequeños strongilidos resistentes a antihelmínticos en establecimientos de diferentes zonas del Uruguay.
2. Aportar información sobre los géneros de nematodos gastrointestinales más prevalentes en equinos de diferentes zonas del Uruguay.
3. Aportar información sobre la distribución de las cargas parasitarias de los equinos en Uruguay, evaluadas a través del conteo de huevos por gramos de materia fecal.

Hipótesis de trabajo

Los objetivos anteriores se apoyan en la siguiente hipótesis:

- a) existiendo un antecedente de resistencia antihelmíntica en pequeños strongilidos en equinos en Uruguay;
- b) la presencia ampliamente constatada de quimiorresistencia en pequeños strongilidos de equinos en todos los continentes;
- c) los pequeños strongilidos son los nematodos gastrointestinales más prevalentes en los equinos en la actualidad;

es razonable pensar que el fenómeno de quimiorresistencia de nematodos en equinos esté ampliamente extendido en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

La presencia de resistencia antihelmíntica se evaluó en 8 establecimientos de diferentes departamentos del Uruguay, utilizando el Test de Reducción de Conteo de Huevos (TRCH) descrito por The World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) (Coles et al. 1992; Duncan et al. 2002; Coles et al. 2006). Para calcular el porcentaje de reducción en el conteo de huevos (%RCH) se utilizó la fórmula de Dash et al. (1988) y para diagnosticar resistencia antihelmíntica se utilizaron las pautas de Kaplan et al. (2004).

Las visitas a los establecimientos se realizaron desde primavera al otoño, durante los años 2007 a 2009. Se extrajeron muestras individuales antes del tratamiento para realizar conteos de huevos por gramo (hpg) de materia fecal y cultivos de larvas para determinar los géneros parasitarios presentes. Los animales en cada establecimiento se distribuyeron en 4 grupos, 3 de los cuales recibieron tratamiento con drogas pertenecientes a diferentes familias y uno permaneció sin tratar, como control. 14 días después del tratamiento se realizaron nuevos conteos de hpg y cultivos de larvas para calcular el porcentaje de reducción en el conteo de huevos (%RCH) y los géneros parasitarios que presentaron resistencia a las drogas.

Selección de establecimientos y animales

Establecimientos

El ensayo se realizó en 8 establecimientos de diferentes zonas del Uruguay (sur, sureste, suroeste y noroeste) denominados con números del 1 al 8. En la figura 7 se presenta la ubicación de cada establecimiento.

El criterio para seleccionar los establecimientos fue:

- a) la presencia de un mínimo de 40 equinos que no hubieran sido desparasitados por lo menos 2 meses antes del inicio de la prueba
- b) los establecimientos debían contar con instalaciones adecuadas para el manejo de los equinos (tubo o cepo)
- c) disponibilidad de personal para colaborar con la manipulación de los animales.



Figura 7. Ubicación geográfica de los establecimientos participantes del estudio en el Uruguay.

Los establecimientos participantes tenían diferentes propósitos y formas de manejo de los animales. Estos datos se resumen en cuadro III.

Cuadro III. Raza y propósito de los equinos, manejo de los animales y programas antiparasitarios de los 8 establecimientos participantes del ensayo.

Establecim.	Raza equina	Propósito	Manejo de los animales	Programa antiparasitario
1	Cuarto de milla	Cría y venta	A campo y en boxes	3 a 4 tratamientos/año. MOX e IVM y BZ
2	Criollos y cruza	Caballos para trabajo y para pruebas experimentales	A campo	4 a 5 tratamientos/año IVM+ praz; BZ +OF
3	Criollos	Caballos de trabajo, cría para venta y para pruebas de rienda	A campo	3 a 4 tratamientos/año (IVM, ABA, BZ)
4	Árabes	Cría y venta	A campo y en boxes	Escasa información anamnésica
5	Criollos	Caballos de trabajo, cría para venta y para pruebas de rienda	A campo	3 a 4 tratamientos/año, IVM, DOR y BZ+OF
6	Árabes	Cría y venta	Padrillos en boxes, resto a campo	5 tratamientos/año, IVM, MOX y BZ
7	PSC	Lugar de estadía para recuperación y partos	A campo y en boxes	IVM cada 2 meses mientras permanecen en el establecimiento
8	PSC, mestizos	Caballos del ejército	A campo y en boxes	Tratamientos cada 2 meses. IVM, BZ

PSC=Pura sangre de carrera, LM= lactonas macrocíclicas, IVM=ivermectina, MOX= moxidectin, BZ= bencimidazol, DOR= doramectina, OF= órgano fosforado, praz= praziquantel, ABA= abamectina.

Animales

Los animales de los que se tomaron muestras eran de diferentes razas (ver cuadro III), de ambos sexos y de edades variadas (1 a 20 años). Durante toda la prueba los equinos recibieron el manejo habitual dentro de cada establecimiento.

Determinación de la resistencia antihelmíntica

TRCH

1) Primera visita a cada establecimiento: conteo de hpg pre tratamiento

En la primera visita a cada establecimiento se tomaron muestras individuales de todos los animales disponibles. Los animales que no estaban identificados fueron marcados con pintura indeleble en el anca izquierda.

Toma de muestras fecales:

Las muestras de materia fecal se tomaron directamente del recto o del suelo cuando se constataba que era recién emitida por el animal, utilizando una bolsa de polietileno. Una vez tomada la muestra, se invirtió la bolsa y se extrajo el aire por completo. Las muestras se identificaron y se conservaron refrigeradas en cajas térmicas con sachets de hielo hasta el arribo al laboratorio para su procesamiento (Nielsen et al. 2010a).

2) Procesamiento de las muestras de materia fecal

El trabajo de laboratorio se realizó en el laboratorio número 1 del Departamento de Parasitología de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Todas las muestras de materia fecal se analizaron con un máximo de 24 horas luego de recolectadas (Nielsen et al. 2010a).

a) Conteo de huevos: las muestras se analizaron individualmente según la técnica de Mc Master (Whitlock, 1948, citado por Coles et al. 1992) modificada por Robert y O`Sullivan (1949, citado por Coles et al. 1992) con una sensibilidad de 50 hpg.

Materiales utilizados

- Microscopio Leitz binocular con platina móvil
- Solución saturada de cloruro de sodio, densidad 1200.
- Cámara Mc Master de 2 celdas (Cámara Sul-Dilave-FAO)
- Balanza electrónica de precisión (10 mg)
- Colador de plástico de uso doméstico de malla grande
- Pipeta graduada
- Mortero
- Recipientes para mezcla de material fecal y solución salina

Procedimiento

Se pesó 3 g de materia fecal de cada muestra. Se coló en un mortero. Se mezcló gradualmente con 10 o 15 mL de solución sobresaturada de cloruro de sodio. Se pasó a otro recipiente y se completó con la solución saturada de cloruro de sodio hasta llegar a 45 mL. Se homogeneizó y luego la mezcla se pasó por un colador hacia otro recipiente.

Se mezcló nuevamente el líquido para homogeneizar la distribución de los huevos y rápidamente con una pipeta se extrajo líquido del nivel medio y se cargó la cámara de 2 celdas de 0.15 mL cada una (total 0.30 mL), con la precaución de que no se formaran burbujas de aire. Se dejó reposar 2 a 3 min, pero no más de 20 min, luego de cargar la cámara.

En el microscopio se contaron todos los huevos presentes en ambas celdas y se multiplicó por 50 el número de huevos encontrado para expresar el resultado como la cantidad hpg) de materia fecal.

La base del cálculo fue:

Se diluyeron 3 g de materia fecal en 45 mL = 1 g en 15 mL.

Se contaron los huevos en 2 celdas de 0.15 mL c/u = 0.30 mL total.

Por lo tanto, si multiplicamos los huevos contados en 0.30 mL x 50, se estimó el número de huevos en 15 mL y de acuerdo a la dilución realizada en 15 mL había 1 g de materia fecal. El resultado se expresó como huevos por gramo (hpg) de materia fecal.

En las muestras que se observó huevos de otros géneros parasitarios no

estrongilidos, se registró su presencia con el símbolo (+) y el género parasitario al que correspondían.

Del total de animales muestreados en las primeras visitas a cada establecimiento, se seleccionaron los que presentaron un conteo hpg igual o mayor a 150 (Coles et al. 2006).

b) Determinación del género parasitario

Cultivo de larvas

Para identificar a qué género parasitario pertenecían los huevos tipo estrongilido contados, se realizaron cultivos de larvas con las muestras que presentaban más de 150 hpg, según la técnica de Corticelli & Lai (citado por Coles et al. 1992).

Materiales

- Frascos de plástico o vidrio, de boca ancha
- Cáscara de arroz
- Cajas de Petri
- Agua destilada
- Pipeta graduada
- Tubos de ensayo
- Microscopio binocular Olympus

Procedimiento

Se mezclaron muestras de tamaño similar de 5 o 6 animales con cáscara de arroz estéril, hasta obtener una mezcla liviana y aireada. Se llenaron con la mezcla $\frac{3}{4}$ partes de los frascos, previamente identificados y se humedeció con agua destilada. Los frascos se taparon, no herméticamente y se colocaron en estufa a 22 – 27 °C por 7 días. Todos los días, se controló la humedad y aireación de las mezclas y cuando fue necesario se humedeció y se mezcló nuevamente.

A los 7 días de cultivo se llenaron los frascos con agua destilada, se colocó una tapa de caja de Petri encima y se dio vuelta sin perder el contacto de la tapa con el borde del frasco. Se colocó agua en la tapa de caja de Petri, de modo que las larvas migraran hacia el agua limpia por debajo del frasco. A las 24 hs se recolectó el agua donde se encontraban las larvas con una

pipeta y se colocó en un tubo de ensayo previamente identificado. Los tubos se conservaron en heladera. Para identificar las larvas, se pipeteó el contenido del fondo del tubo y se depositó en un portaobjetos. Las larvas se inmovilizaron con solución Lugol y se identificaron por lo menos 100 larvas en microscopio según las pautas del Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) contando el número de células intestinales presentes en las L3 (citado por Coles et al. 1992) y luego se calculó el porcentaje de cada género de strongilidos.

En la figura 8 se muestra un esquema de este procedimiento.

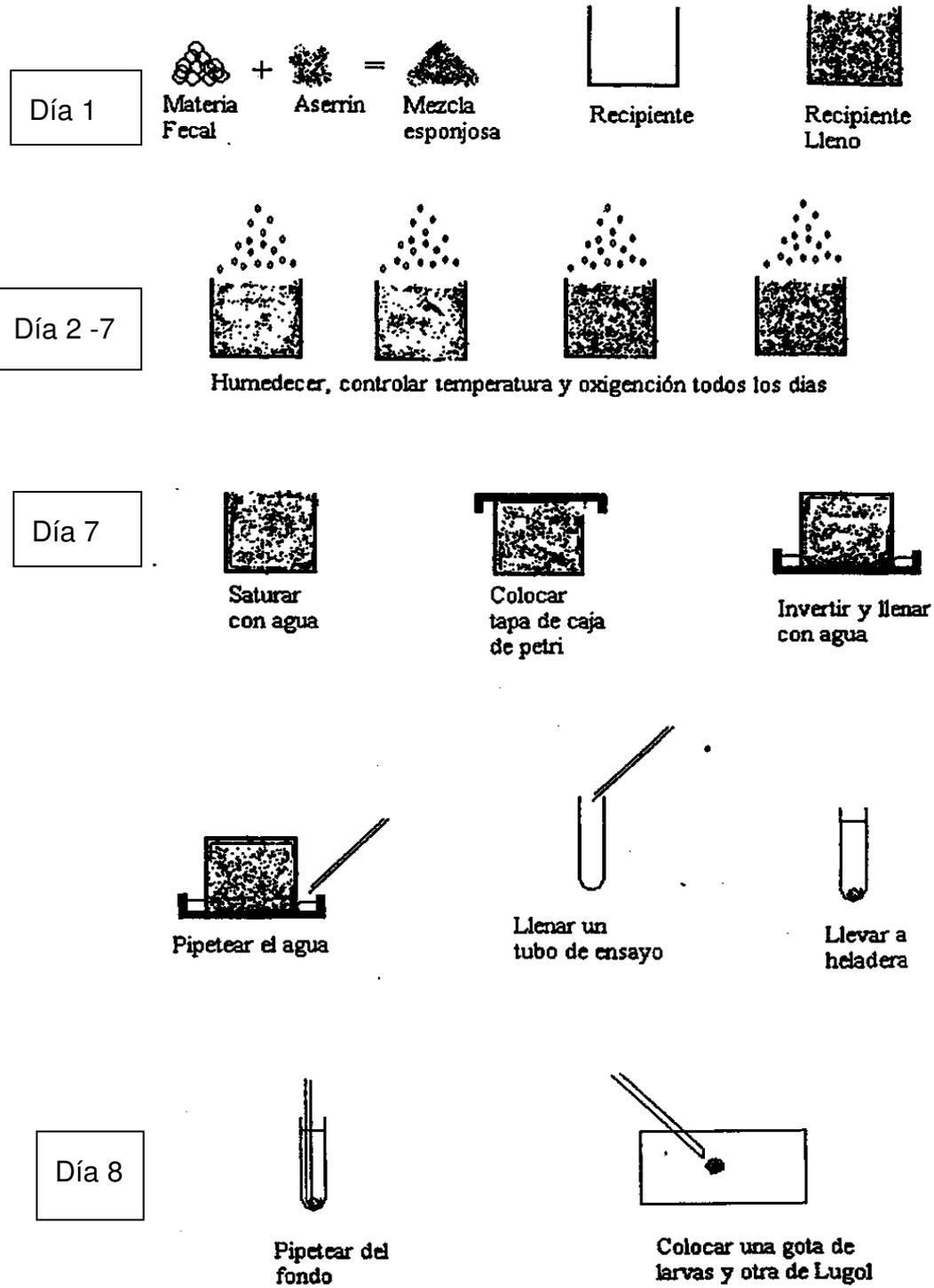


Figura 8. Procedimiento del cultivo de larvas

(Fuente: Secretariado Uruguayo de la Lana. Publicación Curso de actualización en técnicas de diagnóstico de nematodos gastrointestinales en ovinos, 2008).

3) Segunda visita - Tratamiento

Previo a la segunda visita, los animales seleccionados en cada establecimiento se ordenaron según su recuento de hpg de mayor a menor y se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos de igual tamaño. Cada grupo contó con un mínimo de 6 animales, y el máximo dependió del número de animales seleccionados (Duncan et al. 2002).

Los animales de 3 grupos fueron tratados vía oral con una de las drogas a ensayar, según la dosis recomendada por el fabricante. Un grupo en cada establecimiento permaneció sin tratamiento como control. Los datos se presentan en el cuadro IV:

Cuadro IV. Datos de las drogas utilizadas en los grupos tratados

Droga	Dosis	Nombre comercial	Fabricante
Fenbendazol 10 %	7,5 mg/kg pv	Panacur® 10%	Azko Nobel Ltda., división Intervet, Brasil
Ivermectina 1.87%	0,2 mg/kg pv	Eqvalan Pasta®	Merial Saúde Animal Ltda., Brasil
Pamoato de pirantel 24%	6,6 mg/kg pv	Totalject P	Laboratorios Santa Elena, Uruguay

La dosis para cada animal se determinó de acuerdo a su peso. Este se obtuvo utilizando una cinta para cálculo de peso en equinos (Nasco, horse and pony height-weight tape. Nasco, Fort Atkinson, Wisconsin, EE.UU) (Pook et al. 2002) o bien utilizando una balanza electrónica cuando el establecimiento contaba con una.

3) Tercera visita: Conteo de hpg pos-tratamiento

El día 14 pos tratamiento se extrajeron muestras individuales de materia fecal de los equinos de cada grupo.

4) Procesamiento de las muestras de materia fecal pos tratamiento

El procedimiento de extracción y análisis de la materia fecal se realizó de la misma forma que la descrita para el conteo pre-tratamiento. En los grupos tratados se realizaron cultivos de larvas en pool por grupo, según lo descrito para las muestras previas al tratamiento.

5) *Análisis e interpretación de los datos*

a) *Análisis descriptivo*

El resumen de los datos y el análisis descriptivo se realizó con Microsoft Excel. Se calcularon medidas de tendencia central (media aritmética y mediana) y de dispersión (desvío estándar). Se calculó la distribución de hpg del total de animales muestreados y de los equinos en cada establecimiento. Se calculó la distribución de hpg según la edad de los animales.

b) *Evaluación de la presencia de resistencia antihelmíntica*

Cálculo del porcentaje de reducción de conteo de huevos (% RCH)

El % RCH se calculó según la fórmula de Dash et al.(1988):

$$\% \text{ RCH} = [1 - (T2/T1)(C1/C2)] \times 100$$

Dónde:

T1= Media aritmética del conteo hpg grupo tratado pre-tratamiento

T2= Media aritmética del conteo hpg grupo tratado pos-tratamiento

C1= Media aritmética grupo control pre-tratamiento

C2= Media aritmética grupo control pos-tratamiento

Los tratamientos fueron categorizados como efectivos (parásitos susceptibles) si la RCH fue $\geq 90\%$, incierto (sospecha de parásitos resistentes) si la RCH fue 80 a 90% e inefectivo (presencia de resistencia) si la RCH fue $< 80\%$ (Kaplan et al. 2004). Cuando la media del conteo de hpg para un grupo tratado resultó mayor luego del tratamiento, el % RCH se consideró 0.

c) *Análisis estadístico*

Para el análisis estadístico de las mediciones de hpg se utilizó el software estadístico SAS, procedimiento GENMOD (Littell et al. 1991; Cameron et al. 1998) con distribución de Poisson.

RESULTADOS

Distribución de hpg en los equinos

Para estudiar la distribución de hpg se analizaron muestras de un total de 318 equinos en los 8 establecimientos. El 63,8% (203) eran hembras y el 36,2% (115) eran machos.

En el total de individuos, los recuentos de hpg tuvieron un rango de 0 a 2650. La media aritmética (m.a) y el desvío estándar (d.e) del hpg del total de equinos fue 504 ± 499 , la mediana fue 350. En el 11,6% (37 de 318) de los caballos muestreados en primera instancia no se encontraron huevos en la materia fecal. Un 18,2% (58/318) del total de caballos presentaron menos de 150 hpg y no fueron incluidos en el TRCH.

La distribución de los valores de hpg en el total de equinos muestreados se presenta en la figura 9.

La figura 9 muestra una asimetría con cola hacia la derecha. Se observó una clara concentración de individuos con valores de hpg entre 150 y 500 (48,4%). El 33,3% (106/318) de los equinos presentó valores mayores de 500 hpg. Solamente el 13,5% (43/318) de los equinos presentó valores mayores de 1000 hpg.

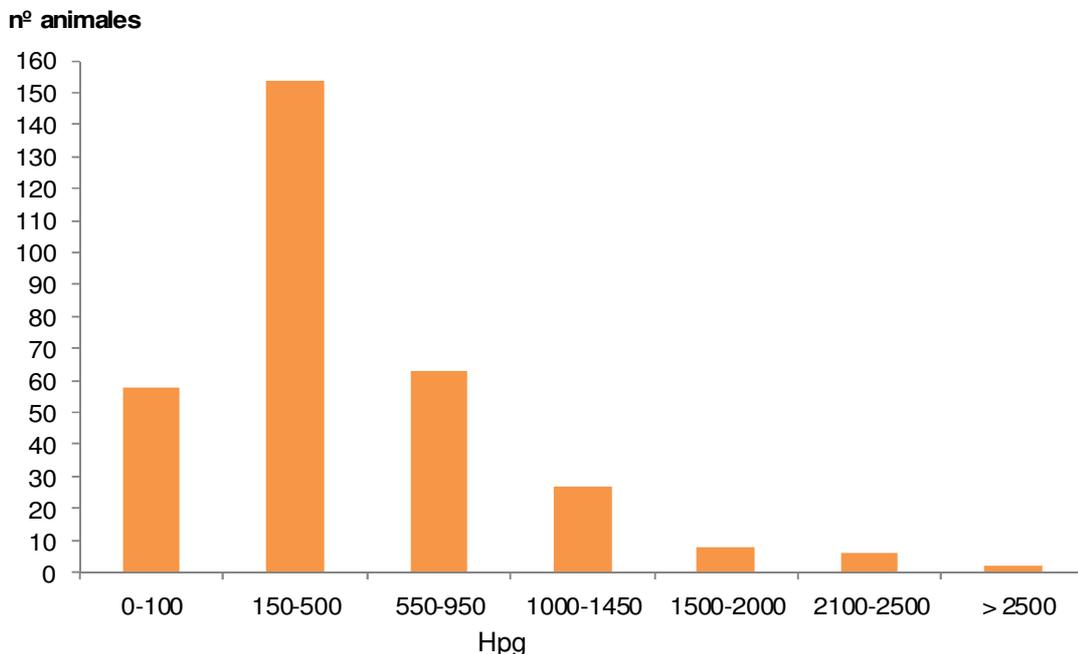


Figura 9. Distribución de hpg en el total de equinos muestreados pre tratamiento.

Distribución de hpg por establecimiento

A continuación se describen los datos de cada establecimiento.

Establecimiento 1:

40 animales fueron muestreados. La m.a±d.e de hpg fue 285,0±316,1 (rango 0 a 1550), mediana 200. No hay datos de edad. 14 animales (35%) presentaron <150 hpg por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 10. Se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

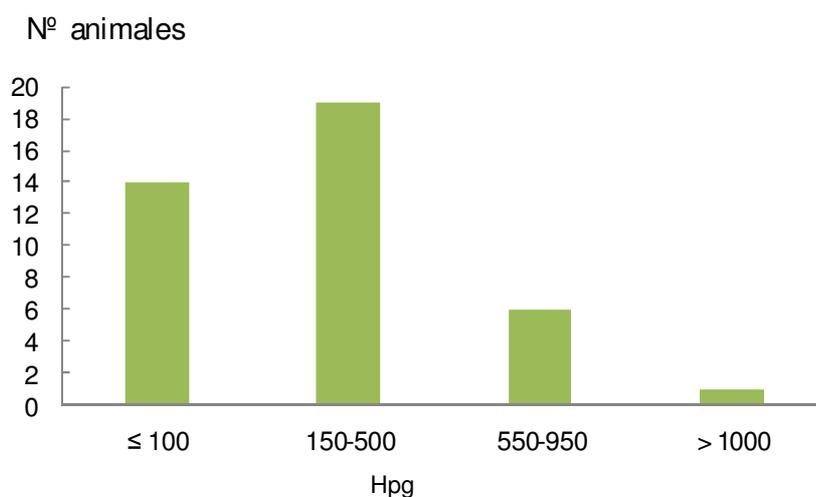


Figura 10. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 1

Establecimiento 2:

Se analizó materia fecal de 30 animales. La m.a±d.e de hpg fue $260,0 \pm 188,2$ (rango 0 a 700), mediana 225. La m.a±d.e de la edad fue de $5,3 \pm 4,3$ años (rango 1 a 20 años). 6 animales (20%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 11 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

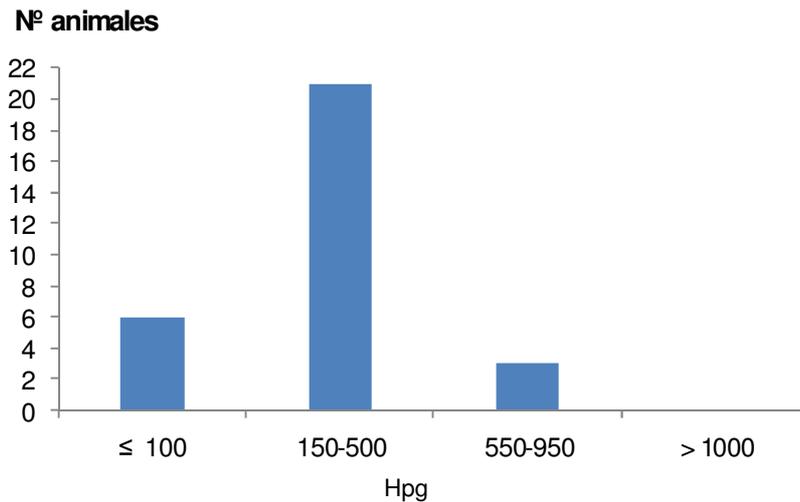


Figura 11. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 2

Establecimiento 3:

Se analizó materia fecal de 34 animales. La m.a±d.e de hpg fue $455,9 \pm 369,8$ (rango 0 a 1400), mediana 350. La m.a±d.e de la edad fue de $3,7 \pm 3,7$ años (rango 1 a 20 años). 6 animales (17,6%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 12 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

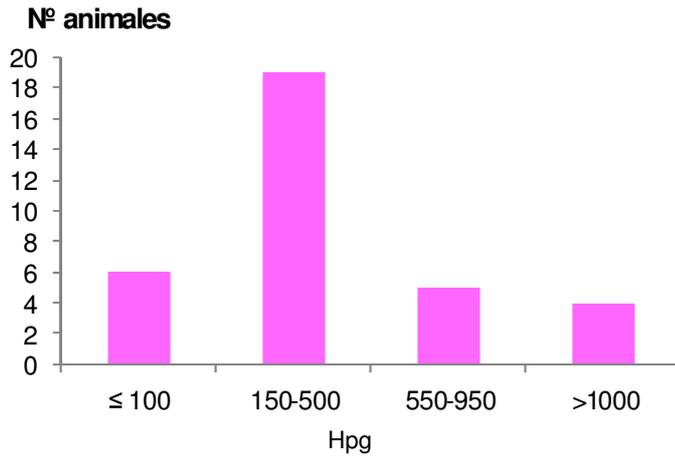


Figura 12. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 3

Establecimiento 4:

44 animales fueron muestreados. La m.a±d.e de hpg 511,4±397,4 (rango 0 a 1850), mediana 500. La m.a±d.e de la edad fue de 3,0±2,4 años (rango 2 a 15). 7 animales (15.9%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 13 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

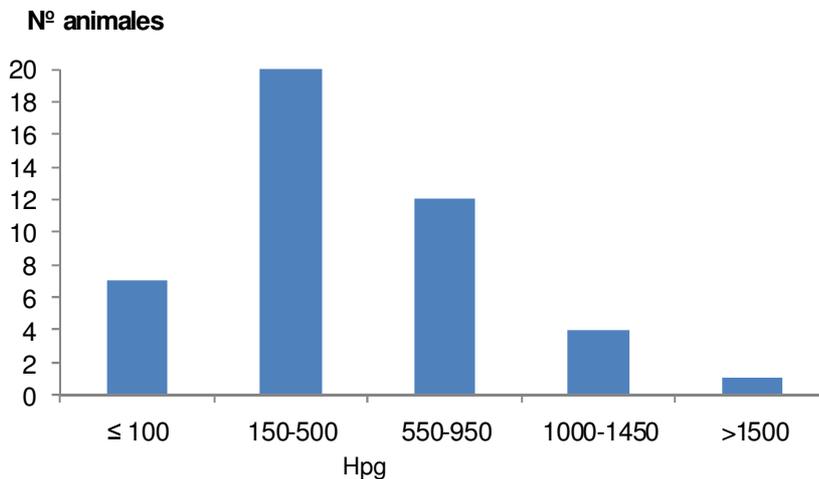


Figura 13. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 4

Establecimiento 5:

Se analizó materia fecal de 56 animales. La m.a±d.e de hpg fue 770,5±553,7 (rango 0 a 2650), mediana 700. La m.a±d.e de la edad fue de 3,1±2,7 años (rango 1 a 15). 5 animales (8,9%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 14 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 550 a 950 hpg.

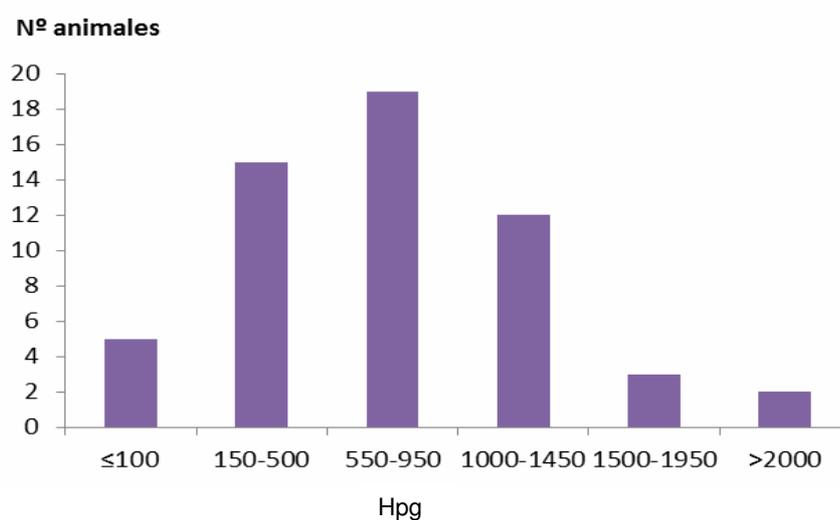


Figura 14. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 5

Establecimiento 6:

40 animales fueron muestreados. La m.a±d.e de hpg fue 602,5±638,2 (rango 0 a 2400), mediana 375. No se obtuvieron datos de edades. 8 animales (20%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 15 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

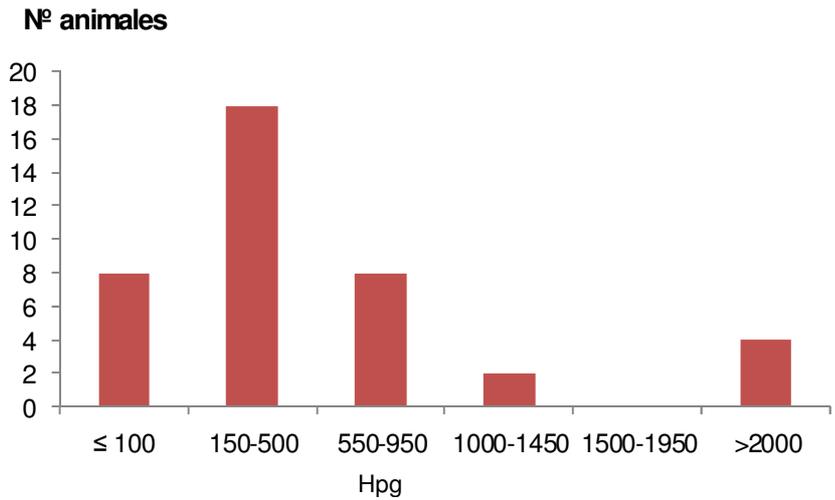


Figura 15. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 6

Establecimiento 7:

40 animales fueron muestreados. La m.a±d.e de hpg fue $591,3 \pm 685,1$ (rango 0 a 2650), mediana 325. La m.a±d.e de la edad fue de $5,2 \pm 3,1$ años (rango 1 a 12). 8 animales (20%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 16 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

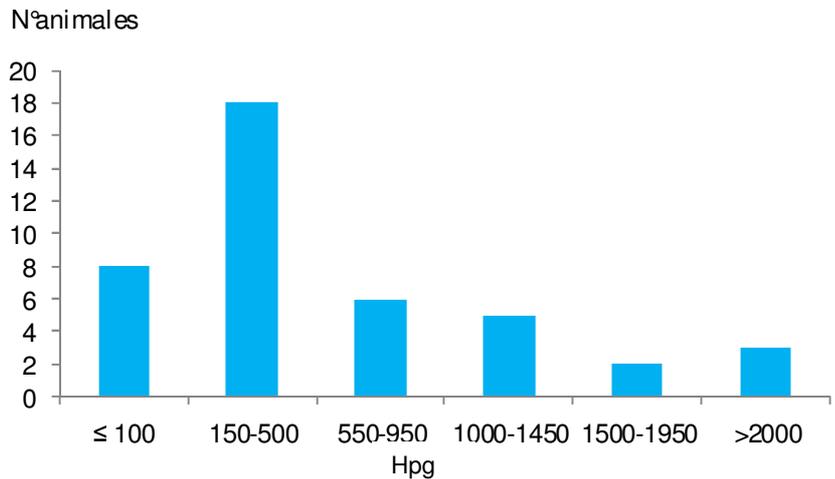


Figura 16. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 7

Establecimiento 8:

34 animales fueron muestreados. La m.a±d.e de hpg fue 375,0±259,7 (rango 50 a 1100), mediana 325. No se obtuvieron datos de edades. 2 animales (5,9%) presentaron <150 por lo tanto no participaron de la prueba. En la figura 17 se observa mayor concentración de individuos en el rango de 150 a 500 hpg.

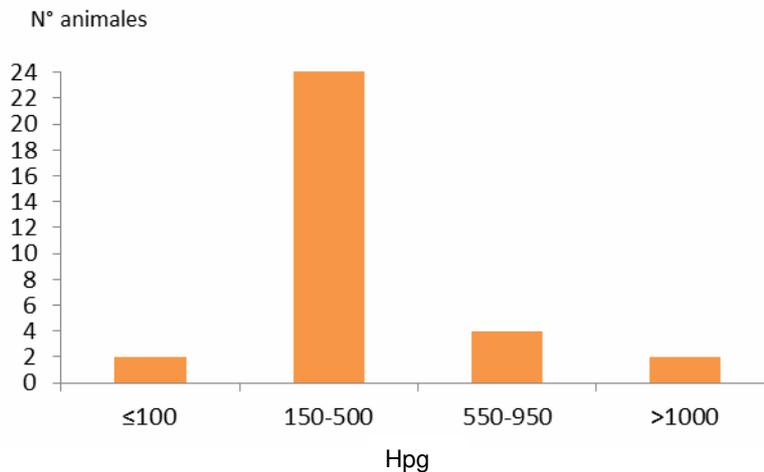


Figura 17. Distribución de hpg en equinos del establecimiento 8

La distribución de hpg en los animales de cada establecimiento presentó la misma asimetría que en el total de los animales muestreados.

En 7 de los 8 establecimientos se observó una mayor concentración de individuos con valores de hpg entre 150 a 500 coincidiendo con el total de equinos muestreados. El establecimiento 5 tuvo la mayor media de hpg y la mayor concentración se dio en el rango de 500 a 950 hpg.

Salvo el establecimiento 1 que presentó 35 % de animales con menos de 150 hpg, los restantes presentaron menos del 20% de los animales muestreados con baja descarga de huevos en la materia fecal (menos de 150 hpg).

Distribución de hpg según la edad de los equinos estudiados

Se obtuvieron datos de 198 caballos de los 318 muestreados. El promedio y el d.e fueron $3,9 \pm 3,3$ años respectivamente (rango de 1 a 20 años).

El promedio \pm d.e de edad de los animales con hpg menor a 150 fue de $6,7 \pm 4,9$ años, con un rango de 2 a 20 años. El promedio de edad de los animales con más de 150 hpg fue de $3,4 \pm 2,5$ años, con un rango de 1 a 15 años.

La edad de los animales con más de 150 hpg fue significativamente menor ($p < 0,05$) que la de los que presentaban menores conteos.

En la figura 18 se observa que los animales de 1 y 2 años presentaron los mayores promedios en los recuentos de huevos.

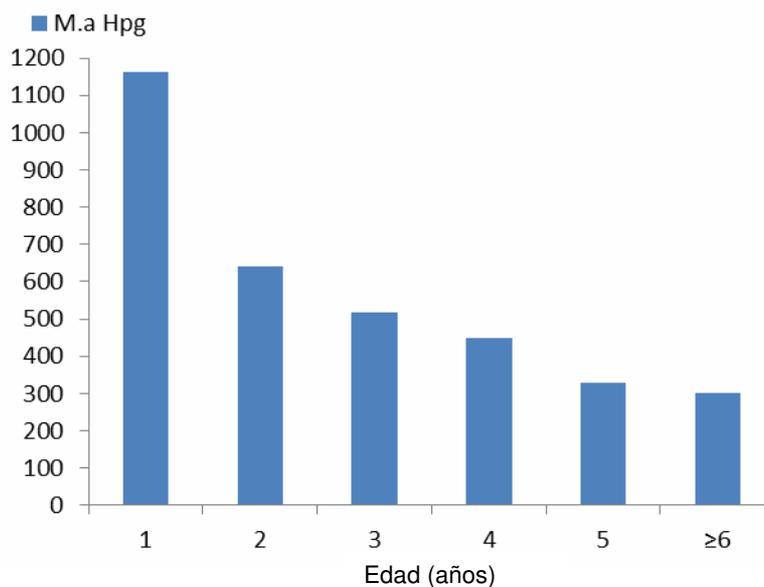


Figura 18. Promedio de los conteos hpg según la edad de los equinos

En la figura 19 se muestra la distribución de hpg de 42 equinos de 5 años o más. Solo se encontraron 3 animales de 5 años o más con recuentos de hpg de más de 1000.

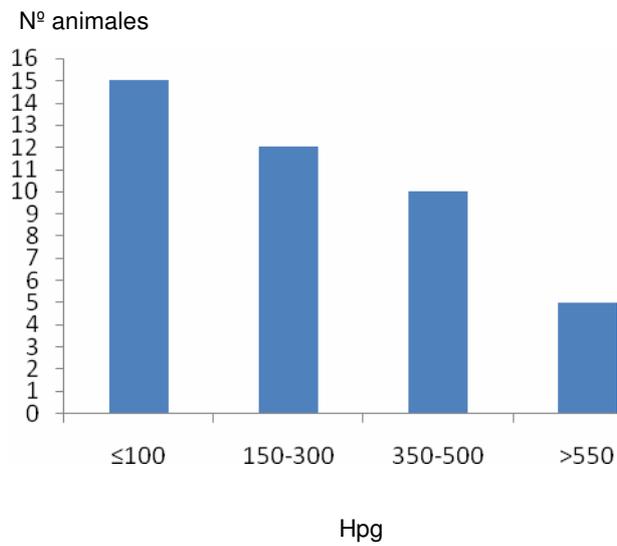


Figura 19. Distribución de hpg en 42 equinos de 5 años o más.

Identificación de huevos y cultivos de larvas

En todos los predios se observaron huevos de tipo estrongilido. En 5 establecimientos se observó además, presencia de huevos de tipo no estrongilido. Los datos se resumen en el cuadro V. Los caballos que presentaron *P. equorum* eran menores de 2 años.

Cuadro V. Presencia de huevos de tipo no estrongilido en equinos en cada establecimiento.

Establecimiento	Género parasitario	% (proporción animales)
1	-	-
2	-	-
3	<i>Anoplocephala</i> sp.	14,7 (5/34)
4	<i>P. equorum</i>	4,5 (2/44)
5	<i>P. equorum</i> <i>Anoplocephala</i> sp.	14,3 (8/56) 5,6 (3/56)
6	-	-
7	<i>P. equorum</i>	17,5 (7/40)
8	<i>Anoplocephala</i> sp.	8,8 (3/34)

Según los resultados de los cultivos e identificación de L3 antes del tratamiento, los huevos de tipo estrongilido encontrados en la materia fecal eran exclusivamente de ciatostominos en todos los establecimientos, menos en el establecimiento 2 donde se encontró, un 2% de larvas de *Trichostrongylus* sp.

Resistencia antihelmíntica

Del universo de 318 equinos muestreados en los 8 establecimientos, 248 participaron de la evaluación de resistencia antihelmíntica. Los 70 equinos restantes no fueron incluidos en los grupos porque presentaron conteos menores de 150 hpg en la materia fecal.

De acuerdo a la fórmula de Dash et al. (1988) y los criterios de Kaplan et al. (2004), se constató la presencia de resistencia antihelmíntica (RA) al fenbendazol en los 8 establecimientos participantes en el ensayo.

En los establecimientos 1, 2 y 8 el %RCH luego del tratamiento con fenbendazol fue 0 ya que la media aritmética del recuento hpg pos tratamiento fue mayor a la media pre tratamiento. El mayor % RCH para esta droga se registró en el establecimiento 3 con 37%.

No se constató resistencia a la ivermectina en ninguno de los establecimientos. En todos los casos el porcentaje de RCH estuvo en un rango de 99 a 100%.

El pamoato de pirantel tampoco presentó resistencia en ningún establecimiento. Los porcentajes de RCH fueron menores que para la ivermectina. En el establecimiento 5 presentó 100% de RCH y en el 8 99%. En el resto el % RCH estuvo entre 95 y 92%.

Los datos se resumen en los cuadros VI a XIII.

En los cultivos de larvas realizados pos tratamiento (día 14) solo se identificaron L3 de pequeños estróngilidos.

Cuadro VI. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 1

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	6	542±516	200-1550	0	-	100
FBZ	6	417±189	200-700	1042±1027	200-2800	0
PIR	6	442±265	150-900	67±117	0-300	92
Control	6	400±237	150-800	733±452	250-1450	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos.

Cuadro VII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 2

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	6	317±209	150-700	0	-	100
FBZ	6	333±181	150-650	340±164	100-550	0
PIR	6	317±186	150-650	17±26	0-50	94
Control	6	300±118	150-450	275±154	150-550	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos.

Cuadro VIII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 3

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	7	521±304	200-1050	0	-	100
FBZ	7	550±363	200-1200	250±241	0-700	37
PIR	7	586±428	250-1400	29±39	0-100	93
Control	7	529±352	250-1200	379±293	0-700	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos.

Cuadro IX. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 4

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	9	589±314	200-1150	6±17	-	99
FBZ	9	639±358	250-1400	511±330	100-1100	1
PIR	9	667±504	200-1850	31±59	0-150	94
Control	9	567±300	150-1200	455±263	0-900	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos

Cuadro X. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 5

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	10	920±563	300-2200	0	-	100
FBZ	10	930±462	300-1800	678±439	0-1250	14,6
PIR	10	945±691	250-2650	0	-	100
Control	10	820±426	300-1700	700±534	0-1250	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos

Cuadro XI. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 6

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	8	706±585	200-2000	6±17	0-50	99
FBZ	8	781±711	200-2300	669±569	50-1900	21
PIR	8	781±764	150-2400	40±89	0-200	95
Control	8	700±619	250-2100	755±693	100-1750	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos

Cuadro XII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 7

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	8	750±667	150-1800	0	-	100
FBZ	8	744±766	150-2350	575±619	0-1700	15
PIR	8	700±834	150-2650	31±53	0-150	95
Control	8	719±676	150-2100	650±608	50-1800	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos

Cuadro XIII. Media aritmética, desvío estándar y rango de valores de hpg pre y pos tratamiento y porcentaje de reducción de conteo de huevos para cada grupo en el establecimiento 8

Grupo	Nº equinos	Hpgi ma±ds	Rango	Hpgf Ma±ds	Rango	% RCH
IVM	8	369±210	150-750	0	-	100
FBZ	8	412±291	150-1050	719±412	300-1650	0
PIR	8	438±325	150-1100	6±18	0-50	99
Control	8	363±217	150-800	781±491	250-1800	-

IVM=ivermectina, FBZ=fenbendazol, PIR=pirantel, Ma=media aritmética, ds=desvío estándar, Hpgi=huevos por gramo pre tratamiento, Hpgf=huevos por gramo pos tratamiento, % RCH= porcentaje de reducción en el conteo de huevos

Análisis estadístico

Se realizó la comparación de medias de mínimos cuadrados entre los tratamientos dentro de cada establecimiento controlando la covariable hpg inicial o pre tratamiento.

Los resultados obtenidos demostraron que en la mayoría de los establecimientos hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) cuando se contrastaron los grupos tratados con IVM o PIR con el grupo control o el tratado con fenbendazol y no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) cuando se compararon el grupo control con el tratado con fenbendazol. Esto demuestra que la elección de una droga para un tratamiento puede tener efecto significativo sobre el resultado del hpg luego del mismo.

En los establecimientos 1 y 7 no se encontraron diferencias significativas entre las medias del grupo control e IVM ($p = 0,077$ y $p = 0,058$ respectivamente para establecimiento 1 y 7) y entre el grupo FBZ e IVM ($p = 0,056$ y $p = 0,073$ respectivamente) esto pudo deberse a que el modelo elegido no tenía la sensibilidad suficiente para detectar diferencias muy pequeñas.

Los datos se adjuntan en el anexo II.

También se corrigió por las covariables sexo y peso pero estas no tuvieron efecto en los tratamientos (datos no presentados).

DISCUSIÓN

Punto de inflexión para la dosificación antihelmíntica

En este estudio se consideró 150 hpg como el límite para que un animal fuera incluido en la prueba. Según Coles et al. (1992) y Herd & Coles (1995) ese valor es el punto de corte que se debe considerar para clasificar a un animal como con baja o alta carga parasitaria. Otros autores recomiendan un punto de corte más alto, 200 hpg, para decidir si desparasitar o no a un caballo (Kaplan et al. 2004; Molento et al. 2008). Según citan Kaplan et al. (2004) las opiniones de los parasitólogos sobre el valor de hpg al que se debe decidir si un caballo necesita tratamiento o no varían de 200 a 500 hpg. Según este autor, los valores de hpg no se correlacionan directamente con la carga parasitaria en el lumen intestinal pero, es muy poco probable que un equino con menos de 200 hpg sufra alguna enfermedad por esa infestación. En definitiva, cuándo considerar a un caballo poco o muy parasitado debe decidirse en base a diferentes factores, además del valor de hpg, como: la estación del año, la edad del animal, su estado sanitario y la cantidad de caballos presentes en el mismo potrero.

En este estudio, el valor máximo de hpg encontrado fue 2650 y la mediana fue 350. Estos valores parecen bajos si se compara con lo habitualmente encontrado en rumiantes. Por lo tanto un punto de corte de 150 podría considerarse el indicado si se quiere establecer un valor de referencia para considerar si un caballo necesita ser desparasitado o no.

Distribución de hpg en los equinos investigados

La distribución de los conteos de hpg se comportó de forma similar a lo ya descrito para la especie equina y para rumiantes (Döpfer et al. 2004; Kaplan et al. 2004). Casi 20% del total de individuos presentaron muy bajos conteos de hpg (menos de 150) y hacen que la distribución pierda su simetría con una cola hacia la derecha como muestra la figura 9. La presencia de animales sin huevos de nematodos (37/318), agudiza esa asimetría.

El 13,5% de los caballos presentaron muy altas cargas (más de 1000 hpg), siendo los principales responsables de la contaminación de las pasturas. Esto corrobora que un bajo porcentaje de los equinos albergan las cargas parasitarias más altas (Monahan 2002; Kaplan et al. 2004).

Las distribuciones de hpg en cada establecimiento se comportaron de forma similar que para el total de equinos. Solo una pequeña parte de la población en cada predio estaba muy parasitada (más de 1000 hpg). Esa distribución es típica de una infestación parasitaria en animales en pastoreo (Kaplan et

al. 2004).

Sin embargo, aproximadamente el 80% de los animales en cada predio presentaron más de 150 hpg y por lo tanto contribuyeron también, en mayor o menor medida, a la contaminación de las pasturas. Teniendo en cuenta la situación de cada establecimiento, estos datos pueden ser indicativos de la aplicación de programas de control poco eficientes.

Döpfer et al. (2004) observaron que más del 50% de un total de 484 equinos mantenían baja carga antiparasitaria (≤ 100 hpg) en dos muestreos de materia fecal con un intervalo de 6 semanas. Estos individuos fueron considerados candidatos a ser excluidos del tratamiento en un plan de dosificaciones selectivas. Se demostró además que la mayoría de los individuos probablemente nunca necesitarían ser tratados.

El concepto de animales con “baja emisión” de huevos o genéticamente resistentes es bien conocido en ovinos y se sabe también que es una característica con una heredabilidad de 0.2 a 0.3 (Castells 2002). En Uruguay existen trabajos para seleccionar ovinos genéticamente resistentes a los nematodos gastrointestinales calculando valores de cría (EPD) para esa característica (FAO 2004).

Los datos presentados en este trabajo no coinciden con los datos de Döpfer et al. (2004), ya que el porcentaje de equinos con baja descarga fue menor al 20%. Los resultados mostrados deben tenerse en cuenta para planificar cualquier programa de control parasitario en equinos. Si se aplicara un control más estricto a los animales con mayor descarga y a los otros solo en momentos estratégicos, se lograría reducir la contaminación de las pasturas, reduciendo también el número de tratamientos y la selección de RA.

Distribución de hpg según la edad de los equinos

La tendencia observada de promedio de edad menor en los animales con mayores conteos de huevos concuerda con las publicaciones que describen cargas parasitarias más altas en equinos menores de 6 años (Kornás et al. 2010).

Se conoce que los animales jóvenes tienen un hpg más alto que los caballos mayores. Esto es debido a que los caballos más añosos tienen cierta resistencia adquirida (Klei & Chapman, 1999; Monahan 2002) pero sin llegar a la resistencia que presentan los bovinos (Nari et al. 1994). Por lo tanto, igual se consideran potenciales fuentes de contaminación. A pesar de que solo se encontraron 3 animales de 5 años o más con recuentos de hpg de más de 1000, hay que tener en cuenta que solo la edad de un equino no es un dato confiable para decidir un plan de desparasitación selectivo ya que esos animales adultos muy parasitados contribuyen a la contaminación de

las pasturas tanto como los animales más jóvenes.

Géneros parasitarios presentes en los equinos investigados

En los cultivos de larvas pre tratamiento predominaron las L3 de pequeños estróngilidos, confirmando que esta subfamilia de parásitos es, en la actualidad, la más prevalente en los equinos (Bowman et al. 2004; Ferreira Barbosa et al. 2001).

Estos datos también coinciden con los resultados de Falcón et al. (2011). En ese estudio realizado en la Facultad de Veterinaria de la UdelaR, se realizó necropsia parasitaria de 8 equinos y se encontró que el 100 % de los animales presentaban pequeños estróngilidos y el 2% *T. axei*. También se encontró *Strongylus* spp. en el ciego y colon de 2 animales.

La presencia de *T. axei* en equinos de un establecimiento de este estudio, se debe al pastoreo compartido con rumiantes. Aunque a este género se lo relaciona más con esa especie, tiene una gran adaptación a otros huéspedes tales como los equinos.

La identificación de huevos de *P. equorum* y cestodes en el presente estudio se podría calificar como hallazgos ya que la técnica de McMaster no es la indicada si el objetivo es encontrar huevos de estos géneros. Es posible que la prevalencia de estos parásitos sea mayor en todos los establecimientos. Si el objetivo es evaluar la presencia de alguno de estos parásitos, se deben utilizar técnicas específicas. El método coprológico que se utiliza en la actualidad para el diagnóstico de *Anoplocephala* spp. es el de sedimentación seguido de flotación con solución sobresaturada de sacarosa. El diagnóstico de ascaridiosis puede realizarse en forma directa empleando la técnica de flotación enriquecida de Willis a partir de materia fecal fresca (Castaño 2005).

La ausencia de grandes estróngilidos en los caballos investigados coincide con la bibliografía consultada (Bowman et al. 2004; Ferreira Barbosa et al. 2001). Esta situación puede tener varias causas, la más citada es que debido al uso masivo de la ivermectina y a intervalos muchos más cortos que el período prepatente de los grandes estróngilidos (de 6 a 11 meses), la prevalencia de estas especies, en especial *S. vulgaris*, a disminuído drásticamente hasta casi desaparecer. Además la ivermectina controla los estadios adultos y las larvas migratorias de los grandes estróngilidos, por lo tanto su ciclo es cortado drásticamente (Monahan, 2002). Esta hipótesis es también sustentada por el hecho que en equinos a los que no se les aplica un tratamiento regular se ha encontrado mayor prevalencia de estos géneros parasitarios (Kaplan, 2002).

Debido al aumento en los niveles de RA en los ciatostominos se ha

enfanzado en la implementación de tratamientos selectivos para disminuir el avance de esa situación, esto implica entre otras cosas disminuir la frecuencia de desparasitaciones. Se sospecha que una posible consecuencia de esto será el aumento en la prevalencia de los grandes estromgilidos. Para corroborar esta hipótesis se realizó un estudio de prevalencia de *S. vulgaris* en equinos en Dinamarca, donde los antiparasitarios para equinos solo pueden comprarse con la indicación de un veterinario y por lo tanto a disminuido considerblemente la frecuencia de tratamientos. Los resultados obtenidos indicaron que los establecimientos donde se utilizaban menores desparasitaciones (régimen de tratamientos selectivos) se asociaban con mayor prevalencia de *S. vulgaris* (Nielsen et al., 2012).

Presencia de resistencia antihelmíntica

Resistencia antihelmíntica al fenbendazol

En este estudio se encontró RA al fenbendazol en el 100% de los establecimientos estudiados. Este es el segundo estudio donde se diagnostica RA de pequeños estromgilidos en nuestro país y el primer estudio de estas características que se realiza en varios establecimientos en Uruguay.

En los cultivos de larvas realizados en los grupos tratados con fenbendazol solo se encontraron L3 de pequeños estromgilidos, confirmando que este es el género parasitario que presenta resistencia a esa droga.

Estos datos no son sorprendentes, ya que concuerdan con la situación documentada a nivel mundial (revisado por Lyons et al. 1999; Kaplan 2002; Brady & Nichols, 2009) y regional (Luz Pereira et al. 1994; Anziani & Catanzaritti, 2005; von Witzendorff et al. 2003 y Molento et al. 2008), pero si son alarmantes.

Es muy probable que este fenómeno que involucra a los BZ, se presente también en otras zonas y poblaciones de caballos de nuestro país y pase desapercibido o sea mal diagnosticado. La similitud de prácticas de control antiparasitario en los establecimientos equinos de nuestro país, la escasa difusión del TRCH para controlar la eficacia de los antihelmínticos y el traslado frecuente de los equinos que los lleva a compartir pasturas con animales de diferentes orígenes, dan sustento a esa hipótesis.

El hallazgo de resistencia a uno de los grupos químicos más utilizados para el control antiparasitario en equinos es una señal de alarma para el control de los endoparásitos. Sugiere que está emergiendo una situación muy seria para el control de pequeños estromgilidos en nuestro país.

Los antihelmínticos pueden fallar en el control de nematodos por varias razones, sin tratarse de resistencia. Según Taylor et al. (2002), la falla en

esos casos puede atribuirse a:

- la subdosificación por la estimación errónea del peso de los animales
- por fallas en el instrumental
- por mala administración

Estas posibles fallas fueron minimizadas en este estudio con la utilización de balanza electrónica o cinta para cálculo de peso en equinos. Según Pook et al. (2002) ambos métodos no tienen diferencias significativas. También contribuyó el uso de instrumental de precisión para la dosificación. Además, las dosificaciones fueron controladas siempre por la misma persona (la autora de la tesis), corroborando que los animales ingirieran todo el producto. Todo esto prácticamente descarta la posibilidad de que los resultados obtenidos se deban a otra causa que no sea la presencia de poblaciones de parásitos resistentes al fenbendazol.

Otra causa de falla en la eficacia de una droga puede ser la baja concentración de la misma en el producto administrado. En este estudio se utilizaron los productos originales para la ivermectina y el fenbendazol. Si bien los mismos no fueron analizados, estos estaban aprobados por la autoridad y disponibles en el mercado local. En el caso del pamoato del pirantel, al no existir un producto comercial en el mercado local cuando se realizó el trabajo, se utilizó una formulación desarrollada para este estudio que contaba con dosificación del principio activo.

Un punto importante a considerar es que solo en 2 predios los encargados manifestaron haber notado baja eficacia de los antiparasitarios utilizados (los animales no engordaban, no mejoraba su aspecto, continuaban eliminando parásitos en la materia fecal). Esto ocurrió en los establecimientos 5 y 6 donde el % de RCH fue 14,6% y 21% respectivamente. Lo sorprendente es que en los demás lugares no notaran algo similar, ni siquiera en aquellos con 0% de RCH. Una posible explicación para esto es que debido a que la patogenicidad de los pequeños estrogilidos se expresa de forma subclínica en la mayoría de los casos, no se notara ninguna diferencia en los animales luego de administrar una droga poco eficaz, porque estos no presentaban ningún síntoma antes de desparasitarlos.

Eficacia de la ivermectina

En este estudio la IVM fue altamente efectiva contra los pequeños estrogilidos de equinos en todos los establecimientos estudiados.

Los valores de RCH obtenidos estuvieron dentro de la eficacia esperada para esta droga, a una dosis de 0,2 mg/kg de peso vivo (>99%) (Xiao et al. 1994; citado por Mottier & Lanusse, 2002).

Hasta el momento, las LM han demostrado reducir los recuentos de huevos de estrongilidos efectivamente en un 99% o más en la mayoría de los casos publicados (revisado por Molento et al. 2011). Sin embargo han aparecido casos aislados donde se ha detectado una reducción en la eficacia de la IVM contra los ciatostominos debido al progresivo acortamiento en el período de reaparición de huevos, que era de 8 a 10 semanas cuando se lanzó la droga al mercado (Hutchens 1999; von Samson-Himmelstjerna 2007; Lyons et al. 2008; Molento et al. 2011). En este trabajo no se evaluó el período de reaparición de huevos en materia fecal por lo tanto no se pueden dar conclusiones al respecto.

No se puede predecir cuánto tiempo transcurrirá hasta que los ciatostominos desarrollen resistencia a las LM, en especial a la IVM. Esta resistencia parece inevitable si se considera que, la existencia en el mercado de genéricos a bajo costo ha provocado el uso masivo de esta y otras LM para la desparasitación de caballos en los últimos 20 años (revisado por Kaplan 2002, Brady et al. 2009). Además, la resistencia a las LM en los nematodos del mismo orden (*Strongylida*) de rumiantes es un fenómeno muy conocido y distribuido en todo el mundo (Coles 2002) y también en nuestro país (Nari et al. 1996). Además, se ha diagnosticado resistencia de los pequeños estrongilidos de asnos a la moxidectina en Reino Unido (Trawford et al. 2005) y poblaciones de *P. equorum* resistentes a IVM en varios países (Boersema et al. 2002, Reinemeyer 2011).

Es probable que una de las causas de la ausencia de resistencia a la IVM en pequeños estrongilidos sea la incapacidad de esta droga para eliminar las larvas presentes en la mucosa intestinal y dado que su prevalencia es mayor a la de parásitos adultos en el lumen, proveen una gran población en refugio. Se sabe que la velocidad con que los alelos de resistencia contra una determinada droga aumentan en una población de parásitos, está dado por una compleja interacción de factores como por ejemplo: el modo de heredabilidad y el número de genes involucrados, la biología y epidemiología del parásito, etc. Algunos investigadores han planteado la posibilidad de que la resistencia a la IVM en los ciatostominos sea poligénica (varios genes involucrados) y que los genes involucrados sean recesivos (como ocurre en *T. colubriformis*) por lo tanto la resistencia se desarrollaría mucho más lentamente, en comparación con los BZ donde la resistencia es monogénica y hace que el proceso de selección sea más rápido. De todas formas hasta que no se encuentren y se estudien genéticamente poblaciones de pequeños estrongilidos resistentes a la IVM no se sabrá ciertamente cual es la causa (Molento et al. 2011, Mottier & Lanusse, 2002)

Eficacia del pirantel

A pesar de la existencia de casos de RA de los pequeños estrongilidos al PIR en diferentes países (revisado por Kaplan 2002; Brady et al. 2009 y Stratford et al. 2011), en el presente estudio esta droga tuvo una buena

eficacia.

No era esperable que el PIR presentara resistencia ya que fue la única de las drogas probadas en este estudio que no se utilizó previamente en ninguno de los 8 establecimientos. Además, no existen reportes donde se haya documentado la resistencia cruzada entre un BZ y el PIR, cómo si se ha encontrado resistencia lateral entre el PIR y el levamisol. Sí se han encontrado poblaciones de pequeños estrongilidos con resistencia múltiple a un BZ y al PIR (Kaplan et al. 2004).

TRCH en equinos: criterios para analizar los datos

Existen varias fórmulas para el cálculo del % de RCH en las diferentes especies de animales. Para el caso de los equinos hay mucha discrepancia entre investigadores sobre cuál es la fórmula más adecuada.

Quizás la fórmula más citada en trabajos de resistencia antihelmíntica en equinos sea la descrita por Coles et al. (1992). Sin embargo, este método no está diseñado exclusivamente para equinos y solo tiene en cuenta los valores de hpg de los grupos tratados y control pos tratamiento. Según estos autores, la eficacia del producto es aceptable si, además, de registrar un valor de RCH de al menos el 90%, el límite inferior del IC del 95% es >90%. El incumplimiento de la segunda condición, permite sospechar resistencia. Según Pook et al. (2002) esta fórmula extrapola a los equinos valores recomendados para parásitos de otras especies, no tiene en cuenta que, por lo general en trabajos con equinos, los grupos son más reducidos que para rumiantes y además, que los individuos variarán mucho en lo que respecta a la edad e historia. Esto provoca un amplio rango de conteos de huevos. Otra desventaja es que, debido al bajo número de repeticiones en cada grupo, es posible que los IC calculados sean imprecisos.

En este estudio se calculó el %RCH con una fórmula que tiene en cuenta los promedios iniciales y finales de un grupo tratado y control (Dash et al. 1988). Con esa fórmula se puede corregir el efecto de la diferencia en las cargas iniciales, hecho muy común en equinos. Además, tiene en cuenta la variación del hpg entre y dentro de los grupos control y tratado y brinda una medida de los cambios que ocurren durante el periodo entre muestreos.

El uso de la media aritmética (promedio) en este estudio, en lugar de la media geométrica, se justifica según FAO (2004) porque:

- a) la media aritmética es más fácil de calcular
- b) provee una mejor estimación de la postura de huevos
- c) es una medida más conservadora y más ajustada a la realidad de la

eficacia de un antihelmíntico.

Como regla general pero no invariable, el % de RCH calculado con la media aritmética será menor que el calculado con la media geométrica. Esta variación en la estimación de la eficacia puede tener poca relevancia cuando la eficacia de la droga es muy alta o muy baja, pero puede ser muy importante cuando el valor está en un rango intermedio (50% a 90%) y debemos decidir si existe resistencia o no. Esta es otra importante razón para utilizar la estimación de la RCH más baja, la cual es más exigente para la droga y permite detectar más tempranamente la presencia de RA (Dash et al. 1988; McKeena 1990).

En un estudio Dobson et al. (2009) concluyeron que la media aritmética estimaba mejor la eficacia de una droga en todos los casos donde existió una distribución dispersa de la población parasitaria y recomienda utilizar esta media y no la media geométrica para el cálculo de eficacia.

Recomendaciones para el control de parásitos gastrointestinales en equinos

Ante la poca perspectiva del lanzamiento de nuevas drogas antiparasitarias para uso en equinos a corto plazo, surge la necesidad de cuidar las drogas que aún funcionan.

Para ello es fundamental implementar programas de control bien diseñados basados en:

- la epidemiología de los helmintos
- la situación particular de los animales en cada predio (conteos de hpg, géneros parasitarios presentes, edad de los animales)
- rotaciones lentas (anuales) entre drogas con diferente mecanismo de acción
- diagnóstico de situación de RA al menos cada dos años
- **verificar periódicamente la eficacia de los productos utilizados a nivel de campo, mediante la extracción de muestras de algunos animales 14 días postratamiento**
- complementar el control químico con manejo de las pasturas y de los animales
- utilizar productos confiables y de fácil administración

Para todo lo mencionado anteriormente el asesoramiento veterinario es fundamental.

En base a los resultados obtenidos en ese estudio se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

a) No es recomendable utilizar FBZ en ninguno de los establecimientos que participaron del estudio. Por la resistencia lateral entre los BZ tampoco es recomendable administrar ninguna droga de esa familia. En general, en los establecimientos donde se han utilizado por muchos años productos con un BZ es recomendable comprobar la eficacia de los mismos mediante un TRCH antes de continuar su uso. En los predios donde se compruebe que aún tiene buena eficacia se debe chequear esa situación anualmente.

b) La IVM presentó excelente eficacia frente a nematodos adultos en los equinos, inclusive contra pequeños estróngilidos resistentes al fenbendazol. Por el momento su uso puede ser recomendado en todos los predios estudiados. De todas formas, su uso debe ser responsable y controlado porque esta situación puede comenzar a cambiar. Sería de mucha utilidad realizar un estudio para chequear el período de reaparición de huevos luego de administrar esta droga y de esa forma poder detectar los primeros indicios de resistencia.

c) El PIR presentó buena eficacia en todos los predios. Esta droga surge como una excelente opción para la rotación de drogas en un programa de control parasitario en equinos. Debido a que ya existen poblaciones de pequeños estróngilidos resistentes al PIR en varios países, su uso debe ser muy controlado.

CONCLUSIONES

Este es el segundo diagnóstico de RA de pequeños estrongilidos a un BZ en el Uruguay y es el primer estudio que es realizado en varios establecimientos de diferentes zonas del país.

Se demostró que existen poblaciones de pequeños estrongilidos resistentes al fenbendazol en Uruguay. La ivermectina y el pirantel fueron eficaces en todos los establecimientos estudiados.

Se corroboró que los ciatostominos son los nematodos predominantes en equinos de todas las edades y que pocos equinos albergan la mayor parte de la población parasitaria.

La conclusión más importante derivada del presente trabajo es que, de acuerdo a la preocupante situación planteada, surge la necesidad de incrementar la investigación a nivel nacional sobre temas relacionados a las parasitosis de equinos. Además es fundamental la difusión de la información disponible, para que se implementen programas de control efectivos contra los parásitos que afectan a los equinos. Ello debería estar especialmente dirigido a los pequeños estrongilidos por ser los nematodos más prevalentes y los que presentan quimioresistencia. Este conocimiento debe ser acompañado de la implementación de medidas no químicas de control, de un uso responsable de las drogas disponibles, y del monitoreo periódico de la eficacia de las mismas para disminuir el avance de la resistencia antihelmíntica en equinos en el Uruguay.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Anziani O, Catanzaritti H. (2005). Resistencia a los benzimidazoles en nematodos de los equinos en Santa Fé, Argentina. *Veterinaria Argentina* 218:5-9.
- 2) Bauer C, Merkt JC, Janke-Grimm G, Bürger HJ. (1986). Prevalence and control of benzimidazole-resistant small strongyles on German thoroughbred studs. *Vet Parasitol* 21:189-203.
- 3) Boersema JH, Borgsteede FH, Eysker M, Elema TE, Gaasenbeek CP, van der Burg WP. (1991). The prevalence of anthelmintic resistance of horse strongyles in The Netherlands. *Vet Q* 13:209-217.
- 4) Boersema JH, Eysker M, Nas JW. (2002). Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Vet. Rec.* 50: 279-281.
- 5) Bowman DD, Lynn RC, Eberhard ML. (Eds). (2004). *Georgis' Parasitología para veterinarios*. Elsevier, 8^{va} ed., Madrid.
- 6) Brady HA, Nichols WT. (2009). Drug resistance in equine parasites: An emerging global problem. *J Equine Vet Sci* 29: 285-295.
- 7) Cabaret J, Berrag B. (2004). Faecal egg count test for assessing anthelmintic efficacy: average versus individually based estimations. *Vet. Parasitol.* 121:105-113.
- 8) Cameron AC, Trivedi PK. (1998). *Regression Analysis of Count Data*. Cambridge, Cambridge University Press
- 9) Castaño R. (2005) Parásitos de los equinos. Conferencia Electrónica. Red de helmintología para América Latina y el Caribe. Disponible en [URL:http://cniia.inta.gov.ar/helminto](http://cniia.inta.gov.ar/helminto).
- 10) Castells D, Trezza C, Sacco G, Ponce de León LI. (1995). Resistencia antihelmíntica de *Ciatostomas* (pequeños estróngilus del equino) al fenbendazol. *Veterinaria* 127:13-18.
- 11) Castells D. (2002). Resistencia genética del ovino a los nematodos gastrointestinales. Disponible en: <http://cniia.inta.gov.ar/helminto>
- 12) Coles CG, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. (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. *Vet. Parasitol.* 44:35-44
- 13) Coles CG, Brown SN, Trembath CM. (1999). Pyrantel resistant strongyles

in racehorses. *Vet. Rec* 145:408.

14) Coles CG. (2002). The sustainable use of anthelmintic in grazing animals. *Vet. Rec.* 151:165-169.

15) Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, von Samson-Himmelstjerna G, Silvestre A, Taylor MA, Vercruysse J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol* 136:167–185.

16) Corning S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors.* 2:Suppl 2: S1.

17) Craven J, Björn H, Henriksen SA, Nansen P, Larsen M, Lendal S. (1998). Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms using 5 different methods of calculation faecal egg count reduction. *Equine Vet J* 30:289-293.

18) Dash KM, Hall F, Barger IA. (1988). The role of arithmetic and geometric mean worm egg counts in faecal egg count reduction test and in monitoring strategic drenching programs in sheep. *Aust. Vet. J.* 65:66-68.

19) Dobson RJ, Sangster NC, Besier RB, Woodgate RG (2009). Geometric means provide a biased efficacy result when conducting a faecal egg count reduction test (FECRT). *Vet. Parasitol.* 161:162-167

20) Döpfer D, Kerssens CM, Meijer YGM, Boersma JH, Eysker M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in Dutch boarding horses. *Vet. Parasitol.* 124:249-258.

21) Dorny P, Meijer I, Smets K, Vercruysse J. (2000). A survey of anthelmintic resistance on Belgian horse farms. Disponible en: <http://www.vdt.ugent.be/code/showupload.php?id=99>

22) Duncan JL, Abbot EM, Arundel JH, Eysker M, Klei TR, Krecek RC, Lyons ET, Reinemeyer C, Slocombe JO. (2002). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.): second edition of guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintic. *Vet. Parasitol.* 103:1-18.

23) Falcón JD. (2002). Presencia de nuevos géneros y especies de estróngilos en los equinos en Uruguay. *Veterinaria* 37: 27-30.

24) Falcón JD, Correa O, Lado P, Castro O, Chifflet L, Salazar M. (2011). Fauna parasitaria encontrada en el tubo digestivo de 8 equinos autopsiados en Facultad de Veterinaria. 7as Jornadas Técnicas Veterinarias, 7 y 8 de noviembre de 2011. Montevideo, Uruguay, p:160-161.

25) Ferreira Barbosa O, Franco Rocha U, da Silva GS, Soares VE, Veronez VA, Pereira de Olivera G, Carvalho VJ, da Costa A.J. (2001). A survey on

Cyathostominae nematodes (*Strongylidea*, *Strongylidae*) in pasture bred horses from Sao Paulo, Brazil. *Semina: Ci Agrarias* 22:17-21.

26) Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). (2004). Module 2. Helminths: anthelmintic resistance: diagnosis, management and prevention. Guidelines resistance Management and integrated parasite control in ruminants. Rome, Italy, p:78-118.

27) Fusé LA, Castillo C, Saumell CA. (1992). Influencia de los factores ambientales sobre los estadios de vida libre y la variación estacional de los parásitos productores de la Estrongilosis Equina. *Rev. Med. Vet.* 73: 32-42.

28) Fusé LA, Samuell CA, Rodríguez HO, Passucci J. (2002). Epidemiología y control de endoparásitos en potrancas criollas. *Revista de Medicina Veterinaria* 83:154-158

29) Gómez EJ, Gutiérrez F, Fusé LA. (2010). Revisión bibliográfica acerca de las parasitosis gastrointestinales de los equinos: su prevención y control. Tesina de grado, Facultad de Ciencias Veterinarias -UNCPBA-, Tandil, Argentina. Disponible en URL: biblio.unicen.edu.ar/?p=get_document&id=58261-1.

30) Herd RP, Coles GC. (1995). Slowing the spread of anthelmintic resistant nematodes of horses in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 136:481-485.

31) Hutchens DE. (1999). Treatment and control of gastrointestinal parasites. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 15:561-573.

32) Ihler CF. (1995) A field survey on anthelmintic resistance in equine small strongyles in Norway. *Acta vet. Scand.* 36:135-143.

33) Kaplan RM. (2002). Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Vet. Res.* 33:491-507.

34) Kaplan RM, Klei TR, Lyons ET, Lester G, Courtney CH, French DD, Tolliver SC, Vidysashankar AN. (2004). Prevalence of anthelmintic resistance cyathostomes on horse farms. *JAVMA* 25:903-910.

35) Klei TR, Chapman MR. (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Vet. Parasitol.* 85:123-136.

36) Kornás S, Cabaret J, Skalska M, Nowosad B. (2010). Horse infection with intestinal helminthes in relation to age, sex, access to grass and farm system. *Vet. Parasitol.* 174:285-291.

37) Lake SL, Matthews JB, Kaplan RM, Hodgkinson JE. (2009). Determination of genomic DNA sequences for beta-tubulin isotype 1 from multiple species of cyathostomin and detection of resistance alleles in third-stage larvae from horses with naturally acquired infections. *Parasit Vectors.*

2. doi: 10.1186/1756-3305-2-S2-S6

38) Lamberti R, Gino L, Calvo C, Bertorello Mascaró G, Benito A. (2008). Epidemiología y parasitismo gastrointestinal en equinos del departamento de Maracó, Provincia de La Pampa, República Argentina. *Ciencia Veterinaria* 10:32-36.

39) Lanes de Almeida G, Molento MB, Jardim Filho JO, Nunes Flores W. (2008). Simultaneously raising sheep as a strategy to control horse parasites. *Proceeding International Equine Parasite Drug Resistance Workshop*. Faculty of Life Sciences University of Copenhagen, July 31-August 1, Copenhagen, Denmark.

40) Littell RC, Freund RJ, Spector PC. (1991). *SAS system for linear models*. SAS Institute, Cary, NC. 3rd Ed. 621 p.

41) Lloyd S, Smith J, Connan RM, Hatcher MA, Hedges TR, Humphrey DJ, Jones AC. (2000). Parasite control methods used by horse owners: factors predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Vet. Rec.* 146:487-492.

42) Love S, Murphy D, Mellor D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet Parasitol.* 85:113-122.

43) Love S. (2003). Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. *Vet. Clin. Equine.* 19:791-806.

44) Luz Pereira AB, Cavichioli JH, Guimaraes JS, Batiston A, Gusmao RAM. (1994). Eficacia a campo do mebendazole, oxibendazole, pamoato de pirantel e doramectin contra pequenos estrongilídeos (*cyathostominae*) de equinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 3:93-97.

45) Lyons ET, Tolliver SC, Drudge JH. (1999). Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Vet. Parasitol.* 85:97-112.

46) Lyons ET, Tolliver SC, Collins SS. (2007). Study (1991 to 2001) of drug-resistant Population B small strongyles in critical test in horses in Kentucky at the termination of 40-year investigation. *Parasitol Res.* 101: 698-701.

47) Lyons ET, Tolliver SC, Ionita M, Lewellen A, Collins SS. (2008). Field studies indicating reduce activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol Res.* 103:209-215.

48) Matthews JB, Hodgkinson J, Dowdall SMJ, Proudman CJ. (2004). Recent developments in research into the *Cyathostominae* and *Anoplocephala perfoliata*. *Vet Res.* 35:371-381.

49) Matthews JB, McArthur C, Robinson A, Jackson F. (2011). The in vitro

diagnosis of anthelmintic resistance in cyathostomins. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.031>

50)McKenna PB. (1990). The detection of anthelmintic resistance by the faecal egg count reduction test: an examination of some of the factors affecting performance and interpretation. *New Zeal Vet J.* 38:142-147.

51)Molento MB. (2005). Resistencia parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. *Ciencia Rural.* 35:1469-1477.

52)Molento MB, Antunes J, Bentes RN, Coles GC. (2008). Anthelmintic resistance nematodos in Brazilian horses. *Vet Rec.* 162:384-385.

53)Molento M.B, Nielsen MK, Kaplan RM. (2011). Resistance to avermectin/milbemicin anthelmintics in equine cyathostomins—Current situation. *Vet. Parasitol.* Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.013.

54)Monahan C. (2002). Estrategias de control de antihelmínticos para caballos En: Bowman D. (Ed.) (2002) *Companion and Exotic Animal Parasitology.* International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.

55)Mottier L, Lanusse C. (2002). Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. Disponible en: <http://cni.inta.gov.ar/helminto/pdf%20resistencia/Mottier2.pdf>

56)Murphy D, Love S. (1997). The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Vet Parasitol.* 70:99–110.

57)Murray MJ. (2003). Treatment of Equine Gastrointestinal Parasites. 8th Congress on Equine Medicine and Surgery. December 16 to 18, Geneva, Switzerland. Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/geneva/2003/murray3/ivis.pdf>

58)Nari A. & Risso E. (1994). Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales. En: *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control.* Hemisfero Sur, Uruguay, p:155-201.

59)Nari A, Salles J, Gil A, Waller P, Hansen J. (1996). The prevalence of resistance in nematode parasite of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Vet. Parasitol.* 62: 213-222.

60)Nielsen MK, Vidyashankar AN, Andersen UV, DeLisi K, Pilegaard K, Kaplan RM. (2010a). Effect of faecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Vet. Parasitol.* 167:55-61.

61)Nielsen MK, Fritzen B, Duncan JL, Guillot J, Eysker M, Dorchies PC, Laugier F, Beugnet F, Meana A, Lussot-Kervern I, von Samson-

Himmelstjerna G. (2010b). Practical aspects of equine parasite control: A review based upon a workshop discussion consensus. *Equine Veterinary Journal* 42:460–468.

62)Nielsen MK. (2011). Sustainable equine parasite control: perspectives and research needs. *Vet Parasitol.* Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.012

63) Nielsen MK, Vidyashankar AN, Olsen SN, Monrad J, Thamsborg SM. (2012). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms-Is it reemerging?. *Vet Parasitol.* 189(2-4):260-6. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.04.039.

64)Osterman Lind E. (2005). Prevalence and control of strongyle nematode infections of horses in Sweden. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

65)Pook JF, Power ML, Sangster NC, Hodgson JL, Hodgson DR. (2002). Evaluation of test for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Vet. Parasitol.* 106:331-343.

66)Reinemeyer CR. (2011).Anthelmintic resistance in non-strongylid parasites of horses. *Vet. Parasitol.* Doi:10.1016/j.vetpar.2011.10.009

67)Sangster NC. (1999). Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins? *Vet. Parasitol.* 85:189-204.

68)Slocombe JOD, Coté JF, de Gannes RVG. (2008). The persistence of benzimidazole-resistant cyathostomes on horse farms in Ontario over 10 years and effectiveness of ivermectin and moxidectin against these resistant strains. *Can Vet J.* 48:56-60.

69)Stratford CH, McGorum BC, Pickles KJ, Matthews JB. (2011). Review article: An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine vet. J.* 43:133-139.

70)Taylor MA, Hunt KR, Goodeyear KL. (2002). Anthelmintic resistance detection methods. *Vet. Parasitol.* 103:183-194.

71)Traversa D, Klei TR, Iorio R, Paoletti B, Lia RP, Otranto D, Sparangano O.AE, Giangaspero A. (2007). Occurrence of anthelmintic resistant equine cyathostome populations in central and southern Italy. *Prev Vet Med.* 82:314-320.

72)Traversa D, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Milillo P, Schürman S, Barnes H, Otranto D, Perrucci S, Frangipane di Regalbono A, Beraldo P, Boeckh A, Cobb R. (2009). Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and

Germany. Parasites & Vectors 2:2.

73)Trawford AF, Burden F, Hodgkinson JE. (2005). Suspected moxidectin resistance in cyathostomes in two donkey herds at the Donkey Sanctuary, UK. Proceedings International equine parasite drug resistance workshop. An international workshop meeting for developing guidelines for the diagnosis of drug resistance in equine parasites. Copenhagen, Denmark, July 31- August 1, 2008. Denmark.

74)Uhlinger C, Kristula M. (1992). Effects of alternation of drug classes on the development of oxbendazole resistance in a herd of horses. J Am Vet Med Assoc. 201:51-55.

75)Uruguay XXI. Disponible en: <http://www.uruguayxxi.gub.uy>

76)Várady M, Königová A, Corba J. (2000). Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia. Vet Parasitol. 94:67-74.

77)Vidyashankar AN, Hanlon BM, Kaplan RM. (2011). Statical and biological considerations in evaluating drug efficacy in equine strongyle parasites using faecal egg count data. Vet. Parasitol. Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.011

78)Von Witzendorff C, Quintana T, Sievers G, Schnieder T, Von Samson-Himmelstjerna G. (2003). Estudio sobre resistencia frente a los benzimidazoles de pequeños estróngilos (*Cyathostominae*) del equino en el sur de Chile. Arch. Med. Vet. 35:187-194.

79)von Samson-Himmelstjerna G, Fritzen B, Demeler J, Schûrmann S, Rohn K, Schnieder T, Epe C. (2007). Cases of reduce cyathostomin egg-reappearance perios and failure of Parascaris equorum egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. Vet Parasitol. 144:74-80.

80)von Samson-Himmelstjerna G. (2011). Anthelmintic resistance in equine parasites - detection, potential clinical relevance and implications in control. Vet. Parasitol. Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.010

Anexo I

Datos

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 1

N°	Identificación	Hpgi	Sexo
1	58	1550	M
2	94	900	H
3	80	800	H
4	31	700	M
5	10	600	H
6	Rubio	550	M
7	1 H	550	H
8	126	500	H
9	24	450	H
10	109	450	M
11	46	450	H
12	62	400	M
13	146	350	H
14	92	350	M
15	Freeka 54	300	H
15	24H	250	H
17	60 LR	250	M
18	Better	250	H
19	Salina	250	H
20	73	200	H

N°	Identificación	Hpgi	Sexo
21	Freeka 8	200	H
22	7	200	M
23	Chela	150	H
24	374	150	H
25	12	150	M
26	97	150	M
27	Tostada	100	H
28	63	100	M
29	42	50	H
30	380	50	M
31	114	0	H
32	18	0	H
33	112	0	H
34	Pepe	0	M
35	64	0	M
36	77	0	H
37	24M	0	M
38	66	0	H
39	382	0	M
40	48	0	H

Grupos del establecimiento 1

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
10	598	600	0
58	390	1550	0
62	454	400	0
73	372	200	0
Freeka 54	524	300	0
Freeka 8	503	200	0
Ma±d.e.	473.5	542±516	0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
7	570	200	200
24	441	450	2800
31	373	700	250
146	539	350	1400
24H	408	250	1350
Rubio	441	550	250
Ma±d.e.	457.4	417±189	1042±1027

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
92	421	350	0
94	421	900	300
109	421	450	0
1 H	468	550	0
60 LR	517	250	50
Chela	461	150	50
Ma±d.e.	451.5	442±265	67±117

Grupo 4 Control

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
46	489	450	350
80	441	800	1450
126	461	500	500
374	532	150	900
Better	503	250	250
Salina	510	250	950
Ma±d.e.	489.3	400±237	733±452

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 2

N°	Identificación	Reseña	Hpgi	Edad (años)	Sexo
1	7	Tostado Rivero	700	2	M
2	8	Zaina tuerta	650	2	H
3	27	Zaino	650	1	M
4	16	Mora	450	6	H
5	5	Zaina colorada	400	4	H
6	21	Tordilla	400	4	H
7	12	Blanca	350	6	H
8	13	Tostado potro	350	6	M
9	20	Tordillo	350	12	M
10	28	Overa	350	4	H
11	29	Tostado ruano	350	4	M
12	32	Colorado	350	2	M
13	18	Tordillo Clavijo	250	8	M
14	30	Moro Rafa	250	3	M
15	31	Mora malacara	250	3	H
15	4	Rosillo Hugo	200	7	M
17	22	Lobuna	200	2	H
18	24	Gateada silleta	200	2	H
19	1	Rosilla gateada	150	3	H
20	2	Zaina grande	150	5	H
21	3	Zaina malacara	150	4	H
22	14	Rosilla gateada	150	4	H
23	17	Rosillo	150	15	M
24	33	Tostada chica	150	10	H
25	23	Gateado tuerto	100	8	M
26	25	Gateada vieja	100	6	H
27	6	Zaino Arocena	0	4	M
28	19	Tostada	0	-	H
29	9	Tostada oreja	0	2	H
30	26	Lobuno viejo	0	20	M

Grupos del establecimiento 2

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
1	396	150	0
4	395	200	0
7	462	700	0
12	302	350	0
29	418	350	0
33	374	150	0
Ma±d.e		317±209	0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
3	463	150	100
18	373	250	550
20	473	350	350
21	448	400	300
22	465	200	400
27	433	650	s/m
Ma±d.e		333±181	340±164

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
2	467	150	0
8	390	650	50
13	350	350	0
17	405	150	0
30	384	250	0
32	413	350	50
Ma±d.e		317±186	17±26

Grupo 4 Control

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
5	424	400	250
14	435	150	150
16	331	450	550
24	421	200	150
28	443	350	350
31	408	250	200
Ma±d.e		300±118	275±154

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 3

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
1	526	1400	2	H
2	543	1200	2	H
3	550	1200	2	H
4	509	1050	2	M
5	523	950	2	H
6	547	900	2	H
7	486	800	3	M
8	502	800	2	M
9	485	550	3	H
10	494	500	3	M
11	483	450	3	M
12	489	450	3	H
13	496	450	3	H
14	480	400	3	H
15	524	400	2	H
15	518	350	2	M
17	520	350	2	M
18	527	350	2	M
19	539	350	2	M
20	546	350	2	H
21	500	300	2	H
22	506	300	2	M
23	Colorado	300	-	M
24	512	250	2	H
25	521	250	2	M
26	Overo	250	8	M
27	548	200	2	H
28	Tostada	200	5	H
29	Pata cortada	100	6	M
30	309	50	4	M
31	460	50	3	M
32	549	0	2	M
33	Tostada vieja	0	20	H
34	Zaino	0	10	H

Grupos del establecimiento 3

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
480	380	400	0
485	390	550	0
486	320	800	0
509	360	1050	0
539	360	350	0
548	410	200	0
Color. Urse	396	300	0
Ma±d.e.		521±304	0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
483	420	450	s/m
496	380	450	250
500	330	300	250
520	390	350	200
543	360	1200	700
547	400	900	0
Tostada	410	200	100
Ma±d.e.		550±363	250±241

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
489	410	450	0
506	390	300	0
521	350	250	0
523	400	950	100
524	410	400	50
526	420	1400	0
527	350	350	50
Ma±d.e.		586±428	29±39

Grupo 4 Control

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
494	350	500	200
502	370	800	0
512	350	250	650
518	320	350	750
546	380	350	350
550	410	1200	600
Overo	380	250	100
Ma±d.e.		529±352	379±293

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 4

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
1	114	1850	2	M
2	141	1400	2	M
3	140	1200	2	M
4	109 C	1150	2	H
5	137	1000	2	H
6	116	950	2	H
7	142	950	2	H
8	122	750	2	H
9	109 P	750	2	H
10	118	700	2	M
11	134	700	2	M
12	143	700	2	H
13	100 Tordilla	650	2	H
14	102	600	2	H
15	117	600	2	H
15	136	600	2	H
17	145	600	5	H
18	68	500	3	H
19	97	500	3	M
20	99	500	2	M
21	128	500	2	M
22	129	500	2	M
23	113 P	500	4	H
24	105	450	2	H
25	78	400	2	H
26	110	400	2	H
27	138	400	8	H
28	111C	400	3	H
29	108	350	2	M
30	16 T	300	2	M
31	30	250	4	H
32	96	250	3	H
33	135	250	2	M
34	146	200	2	H
35	Prado	200	2	M

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
36	73	150	3	H
37	83	150	3	M
38	123	100	2	M
39	113 C	100	2	H
40	111P	0	15	M
41	16 H	0	4	M
42	Paufa	0	3	H
43	Zaffa	0	3	M
44	Lor	0	10	M

Grupos del establecimiento 4

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
30	250	400	0
97	500	300	0
102	600	260	0
138	400	200	50
142	950	240	0
109 C	1150	250	0
109 P	750	250	0
113 P	500	200	0
Prado	200	370	0
Ma±d.e	589±314		6±17

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
100 Tord.	650	230	300
116	950	280	950
128	500	220	650
134	700	230	100
135	250	250	300
141	1400	230	1100
145	600	220	450
111 C	400	230	300
16 Tost	300	350	450
Ma±d.e	639±358		511±330

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
68	500	320	0
78	400	400	0
96	250	300	s/m
114	1850	220	0
117	600	220	100
129	500	230	0
137	1000	220	0
143	700	200	0
146	200	200	150
Ma±d.e	667±504		31±59

Grupo 4 Control

Identificación	Hpgi	Hpgf
99	500	350
105 Tord	450	200
108 Tara	350	450
110	400	400
118	700	550
122	750	600
136	600	650
140	1200	900
73	150	0
Ma±d.e	567±300	455±263

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 5

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
1	212	2650	3	H
2	381	2200	2	H
3	406	1800	1	H
4	313	1700	2	H
5	3 (spray)	1700	2	H
6	412	1450	1	M
7	325	1400	3	M
8	1 (spray)	1350	-	M
9	383	1250	2	M
10	Bayo	1250	4	M
11	260	1150	3	H
12	2 (spray)	1100	2	H
13	185	1050	5	H
14	402	1050	1	H
15	403	1050	1	H
15	300	1050	2	H
17	201	1000	3	H
18	408	900	1	M
19	279	900	3	M
20	171	900	10	H
21	Patita	850	-	H
22	392	800	2	H
23	374	800	2	H
24	226	800	3	H
25	314	750	2	H
26	130	750	4	H
27	410	750	1	M
28	426	700	1	M
29	386	700	2	M
30	395	700	2	M
31	378	700	2	M
32	114	700	6	M
33	Dolores	650	12	H
34	391	600	2	M
35	376	550	2	M
36	364	550	2	H

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
37	135	500	5	M
38	339	450	2	H
39	80	400	8	H
40	375	400	2	H
41	354	400	2	M
42	442	350	1	H
43	332	350	2	M
44	356	300	2	H
45	377	300	2	M
46	274	300	3	M
47	236	300	3	H
48	362	250	2	H
49	278	150	3	M
50	605	150	6	M
51	344	150	2	M
52	309	100	2	M
53	293	50	3	H
54	306	0	2	H
55	79	0	15	H
56	Bayo viejo	0	-	M

Grupos del establecimiento 5

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
214	415	700	0
185	370	1050	0
354	385	400	0
374	360	800	0
376	400	550	0
377	370	300	0
381	380	2200	0
403	380	1050	0
412	390	1450	0
426	355	700	s/m
Ma±ds		920±563	0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
201	395	1000	550
236	390	300	1150
260	450	1150	650
279	410	900	1200
300	380	1050	450
314	385	750	250
325	390	1400	600
391	390	600	0
406	440	1800	1250
442	400	350	0
Ma±ds		930±462	678±439

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Peso (kg)	Hpgi	Hpgf
171	360	900	0
212	420	2650	0
332	330	350	0
339	400	450	0
362	370	250	0
386	490	700	0
392	440	800	0
402	350	1050	0
408	355	900	0
Ma±ds		945±691	0

Grupo 4 Control

Identificación	Peso	Hpgi	Hpgf
3	-	1700	1200
2	-	1100	600
80	-	400	1000
130	-	750	450
135	-	500	0
274	-	300	s/m
378	-	700	1200
Bayo	-	1250	1250
Dolores	-	650	300
Patita	-	850	300
Ma±ds		820±426	700±534

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 6

N°	Identificación	Hpgi	Peso (kg)
1	276	2400	245
2	279	2300	215
3	267	2100	265
4	285	2000	315
5	296	1450	305
6	201	1350	260
7	283	950	220
8	293	950	255
9	278	850	250
10	284	800	255
11	286	700	200
12	301	650	230
13	303	600	280
14	243	550	220
15	275	500	235
15	240	500	250
17	254	450	260
18	193	450	225
19	289	450	230
20	230	400	350
21	291	350	230
22	256	350	290
23	252	350	310
24	227	300	285
25	260	300	250
26	206	300	250
27	281	300	295
28	302	300	310
29	282	250	300
30	12	200	420
31	239	200	235
32	299	150	275
33	195	100	240
34	244	100	260
35	16	50	225
36	223	50	270

N°	Identificación	Hpgi	Peso (kg)
37	255	50	255
38	304	0	300
39	306	0	320
40	203	0	245

Grupos del establecimiento 6

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Hpgi	Hpgf
285	2000	0
283	950	0
278	850	0
243	550	0
254	450	0
291	350	50
227	300	0
12	200	0
Ma±ds	706±585	6±17

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Hpgi	Hpgf
279	2300	1900
201	1350	950
286	700	500
303	600	750
193	450	300
256	350	50
260	300	550
239	200	350
Ma±ds	781±711	669±569

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Hpgi	Hpgf
276	2400	200
296	1450	0
301	650	s/m
275	500	0
289	450	0
252	350	200
206	300	0
299	150	0
Ma±ds	781±764	40±89

Grupo 4 Control

Identificación	Hpgi	Hpgf
267	2100	1750
293	950	250
284	800	350
240	500	350
230	400	1450
281	300	100
302	300	1600
282	250	350
Ma±ds	700±619	755±693

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 7

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
1	37	2650	1	H
2	36	2350	1	H
3	38	2100	1	H
4	Svedova	1800	6	H
5	Toquetona	1700	10	H
6	Admunision	1400	4	H
7	Diosa Mulata	1150	3	H
8	33	1050	1	H
9	Pasimal	900	4	H
10	35	900	1	H
11	31	700	1	H
12	34	650	2	H
13	Indian Fax	550	4	H
14	Clemencia	550	4	H
15	Padilla	450	10	H
15	Ferrara	400	8	H
17	Abelina Que	350	6	H
18	Timonela	350	5	H
19	Prusiana	350	3	H
20	Propaganda	350	10	H
21	Alberta	300	6	H
22	Lagoas	300	7	H
23	Lady Milenium	250	8	H
24	Manoseos	250	-	H
25	Negra M ^a	250	8	H
26	Joli Folle	200	8	H
27	Dulce Liberal	200	8	H
28	Belinda	150	2	H
29	Pavlova	150	3	H
30	32	150	1	H
31	Centella Deer	100	4	H
32	Por Deseos	100	5	H
33	Humeda	50	8	H
34	Tafia	0	12	H

N°	Identificación	Hpgi	Edad (años)	Sexo
35	Rirri	0	6	H
36	Mandicova	0	9	H
37	Hersova	0	5	H
38	Nikita	0	8	H
39	37	0	5	H
40	36	0	6	H

Grupos del establecimiento 7

Grupo 1 Ivermectina

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
Svedova	1800	510	0
Toquetona	1700	490	0
Pasimal	900	550	0
34	650	260	0
Timonela	350	470	0
Lady Milenium	250	490	0
Dulce Liberal	200	430	0
Por Deseos	150	470	0
Ma±de	750±667		0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
36	2350	430	1150
Admunisión	1400	490	850
31	700	290	0
Clemencia	550	440	1700
Prusiana	350	490	300
Alberta	300	480	0
32	150	380	550
Belinda	150	450	50
Ma±de	744±766		575±619

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
37	2650	450	0
33	1050	260	0
Ferrara	400	450	0
Padilla	450	500	150
Propaganda	350	430	50
Lagoas	300	520	0
Manoseos	250	520	50
Centella	150	500	0
Ma±de	700±834		31±53

Grupo 4 Control

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
38	2100	410	1250
Diosa Mulata	1250	455	700
35	900	420	50
Indian Fax	550	550	100
Abelina	350	470	450
Negra M ^a	250	470	200
Jollie Folle	200	490	650
Pavlova	150	530	1800
Ma±de	719±676		650±608

Datos de equinos muestreados en el establecimiento 8

N°	Identificación	Hpgi	Sexo
1	Colleron	1100	M
2	Isabelino	1050	M
3	Museña	800	H
4	Combate	750	M
5	Fiador	750	M
6	Piston	550	M
7	Poronguera	500	H
8	Hurón	500	M
9	Fabián	500	M
10	Pamperito	450	M
11	Nochera	400	H
12	Retranca	400	H
13	Retreta	400	H
14	Chico Negro	400	M
15	Sabiá	350	M
15	Sacocha	350	H
17	Penacho	350	M
18	Olivo	300	M
19	Arapey	300	H
20	Ilustre	250	M
21	Hijuela	250	H
22	Pompeya	250	H
23	Cadenilla	200	M
24	Danubio	200	M
25	SVR Ulano	200	M
26	Victoriosa	200	H
27	Tenebroso	150	M
28	Tornado	150	M
29	Bruja	150	H
30	Nazarena	150	H
31	SVR Picaso	150	M
32	Pantanoso	150	M
33	Relámpago	0	M
34	Lucero	0	M

Grupos del establecimiento 8

Grupo 1 Ivermectina

Nombre	Hpgi	Peso (kg)	Hpgi
Fiador	750	410	0
Poronguera	500	400	0
Fabián	500	430	0
Chico Negro	400	430	0
Arapey	300	470	0
Cadenilla	200	380	0
Tenebroso	150	350	0
SVR Picaso	150	410	0
Ma±de	369±210		0

Grupo 2 Fenbendazol

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
Isabelino	1050	360	300
Piston	550	420	500
Nochera	400	380	500
Retreta	400	350	1650
Penacho	350	370	650
Hijuela	250	370	850
Tornado	150	460	550
Nazarena	150	470	750
Ma±de	412±291		719±412

Grupo 3 Pirantel

Identificación	Hpgi	Peso (kg)	Hpgf
Collerón	1100	430	50
Combate	750	380	0
Retranca	400	390	0
Sabia	350	400	0
Olivo	300	410	0
Pompeya	250	370	0
SVR Ulano	200	410	0
Pantanoso	150	350	0
Ma±de	438±325		6±18

Grupo 4 Control

Identificación	Hpg	Peso (kg)	Hpgf
Museña	800	390	1800
Hurón	500	400	500
Pamperito	450	400	950
Sacocho	350	380	750
Ilustre	250	400	500
Danubio	200	390	1050
Victoriosa	200	410	450
Bruja	150	380	250
Ma±de	363±217		781±491

Anexo II

Datos análisis estadístico

ESTABLEC = 1

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 24

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	1
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChiSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	-0.3415	0.3729	1	0.84	0.3598
TRAT	CONTROL	IVERM	4.3872	2.4852	1	3.12	0.0775
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.2907	0.9342	1	6.01	0.0142
TRAT	FENBEND	IVERM	4.7287	2.4797	1	3.64	0.0565
TRAT	FENBEND	PIRANT	2.6321	0.9210	1	8.17	0.0043
TRAT	IVERM	PIRANT	-2.0966	2.6208	1	0.64	0.4237

ESTABLEC =2

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 23
Missing Values 1

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	2
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	-0.2937	0.1903	1	2.38	0.1228
TRAT	CONTROL	IVERM	3.4988	0.7304	1	22.94	<.0001
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.4842	0.4609	1	29.05	<.0001
TRAT	FENBEND	IVERM	3.7925	0.7346	1	26.65	<.0001
TRAT	FENBEND	PIRANT	2.7779	0.4658	1	35.56	<.0001
TRAT	IVERM	PIRANT	-1.0146	0.8361	1	1.47	0.2249

ESTABLEC = 3

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 27
Missing Values 1

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	3
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	0.4224	0.3579	1	1.39	0.2379
TRAT	CONTROL	IVERM	3.6531	1.3615	1	7.20	0.0073
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.3433	0.7187	1	10.63	0.0011
TRAT	FENBEND	IVERM	3.2307	1.3745	1	5.52	0.0187
TRAT	FENBEND	PIRANT	1.9209	0.7415	1	6.71	0.0096
TRAT	IVERM	PIRANT	-1.3098	1.5093	1	0.75	0.3855

ESTABLEC = 4

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 35
Missing Values 1

Class Level Information

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	4
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	-0.0165	0.1943	1	0.01	0.9325
TRAT	CONTROL	IVERM	3.4244	0.7761	1	19.47	<.0001
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.6870	0.5255	1	26.15	<.0001
TRAT	FENBEND	IVERM	3.4409	0.7751	1	19.71	<.0001
TRAT	FENBEND	PIRANT	2.7035	0.5188	1	27.15	<.0001
TRAT	IVERM	PIRANT	-0.7374	0.9156	1	0.65	0.4206

ESTABLEC = 5

Model Information

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 38
Missing Values 2

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	5
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	0.1782	0.2431	1	0.54	0.4636
TRAT	CONTROL	IVERM	4.3476	1.4435	1	9.07	0.0026
TRAT	CONTROL	PIRANT	4.3648	1.4453	1	9.12	0.0025
TRAT	FENBEND	IVERM	4.1694	1.4432	1	8.35	0.0039
TRAT	FENBEND	PIRANT	4.1866	1.4445	1	8.40	0.0038
TRAT	IVERM	PIRANT	0.0171	2.0261	1	0.00	0.9932

ESTABLEC = 6

Model Information

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 31
Missing Values 1

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	6
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	0.2243	0.2667	1	0.71	0.4003
TRAT	CONTROL	IVERM	3.8703	1.2688	1	9.31	0.0023
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.5839	0.6864	1	14.17	0.0002
TRAT	FENBEND	IVERM	3.6460	1.2712	1	8.23	0.0041
TRAT	FENBEND	PIRANT	2.3596	0.6888	1	11.74	0.0006
TRAT	IVERM	PIRANT	-1.2864	1.4199	1	0.82	0.3650

ESTABLEC = 7

The GENMOD Procedure

Model Information

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 32

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	7
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	0.2299	0.3726	1	0.38	0.5373
TRAT	CONTROL	IVERM	4.2350	2.2342	1	3.59	0.0580
TRAT	CONTROL	PIRANT	2.7906	1.0541	1	7.01	0.0081
TRAT	FENBEND	IVERM	4.0052	2.2360	1	3.21	0.0733
TRAT	FENBEND	PIRANT	2.5607	1.0578	1	5.86	0.0155
TRAT	IVERM	PIRANT	-1.4444	2.4435	1	0.35	0.5544

ESTABLEC = 8

Model Information

Data Set WORK.A
Distribution Poisson
Link Function Log
Dependent Variable HPGFC

Number of Observations Used 32

Class Level Information

Class	Levels	Values
ESTABLEC	1	8
TRAT	4	CONTROL FENBEND IVERM PIRANT

Parameter Information

Parameter	Effect	TRAT
Prm1	Intercept	
Prm2	TRAT	CONTROL
Prm3	TRAT	FENBEND
Prm4	TRAT	IVERM
Prm5	TRAT	PIRANT
Prm6	HPGI	

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	TRAT	TRAT	Estimate	Error	DF	Chi-Square	Pr>ChSq
TRAT	CONTROL	FENBEND	0.1077	0.2017	1	0.28	0.5935
TRAT	CONTROL	IVERM	4.3735	1.2406	1	12.43	0.0004
TRAT	CONTROL	PIRANT	3.9237	0.9777	1	16.11	<.0001
TRAT	FENBEND	IVERM	4.2658	1.2414	1	11.81	0.0006
TRAT	FENBEND	PIRANT	3.8160	0.9779	1	15.23	<.0001
TRAT	IVERM	PIRANT	-0.4498	1.5673	1	0.08	0.7741